

Aus der Klinik für Strahlendiagnostik
Direktor: Prof. Dr. med. Andreas H. Mahnken
des Fachbereichs Medizin der Philipps-Universität Marburg
in Zusammenarbeit mit dem
Universitätsklinikum Gießen und Marburg GmbH, Standort Marburg

AUSWIRKUNG EINER KONTRASTMITTELGABE AUF DAS
AUFTRETEN VON DNA-DOPPELSTRANGBRÜCHEN BEI
COMPUTERTOMOGRAPHISCHEN
THORAXUNTERSUCHUNGEN

Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der
gesamten Zahnmedizin



dem Fachbereich Medizin der Philipps-Universität Marburg vorgelegt von

Jan-Friedrich Walter Peter
aus Hadamar

Marburg 2013

Angenommen vom Fachbereich Medizin der Philipps-Universität Marburg

am: 10.10.2013

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs.

Dekan: Prof. Dr. med. Helmut Schäfer

Referent: Prof. Dr. med. Dr. rer. physiol. Johannes T. Heverhagen

1. Korreferent: Prof. Dr. med. Dr. med. dent. Andreas Neff

2. Korreferent: Prof. Dr. med. Andreas Burchert

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis	vii
Tabellenverzeichnis	viii
Abkürzungsverzeichnis	ix
1. Einleitung	1
1.1. Die Computertomographie	1
1.1.1. Geschichte und Prinzip der Computertomographie	1
1.1.2. Dosisbegriffe in der Computertomographie	2
1.1.3. Kontrastmittel in der Computertomographie	3
1.2. Auswirkungen ionisierender Strahlung auf die DNA	4
1.2.1. DNA-Doppelstrangbrüche	4
1.2.2. Die Reparatur von DNA-Doppelstrangbrüchen	4
1.2.3. Quantifizierung von DNA-Doppelstrangbrüchen mittels γ H2AX-Methode	6
1.3. Ableitung der Fragestellung	7
2. Material und Methoden	9
2.1. Patienten	9
2.2. Material	10
2.3. Computertomographie	13
2.4. Lymphozytenseparation und Fixierung	13
2.5. Immunfluoreszenzfärbung	15
2.6. Mikroskopische Auswertung	15
2.7. Biostatistische Methoden	17
3. Ergebnisse	19
3.1. Charakteristika der Patienten	19
3.2. Ergebnisse der mikroskopischen Auswertung	27
3.3. Schließende Statistik	30
3.3.1. Vergleich der Untersuchungsparameter zwischen den Ko- horten	30
3.3.2. Vergleich der Ergebnisse zwischen den Kohorten	33
3.3.3. Vergleich der Ergebnisse innerhalb der Kohorten	36

4. Diskussion	39
4.1. Diskussion des Studienkollektivs und der Methodik	39
4.2. Diskussion der Ergebnisse	40
4.3. Kritische Würdigung und Grenzen der Studie	43
4.4. Ausblick	44
5. Zusammenfassung/Summary	46
A. Anhang	50
Literatur	66
Curriculum Vitae (entfernt)	72
Verzeichnis der akademischen Lehrer	73
Danksagung	74
Ehrenwörtliche Erklärung (entfernt)	76

Abbildungsverzeichnis

2.1. Dichtegradienten-Zentrifugation	14
2.2. Mikroskopische Aufnahmen	16
2.3. Lymphozytenzellkern mit γ H2AX-Foci	17
3.1. Vergleich der Mittelwerte Foci pro Zelle mit Fehlerbalken	29
3.2. Vergleich der Mittelwerte Länge mit Fehlerbalken	32
3.3. Vergleich der Mittelwerte DLP mit Fehlerbalken	32
3.4. Vergleich der Mittelwerte CTDIvol mit Fehlerbalken	33

Tabellenverzeichnis

2.1. Verwendetes Material	10
2.2. Angewendete statistische Verfahren	18
3.1. Alter der Patienten	21
3.2. Gewicht der Patienten	22
3.3. Größe der Patienten	23
3.4. Dosis-Längen-Produkt	24
3.5. Erhaltene Strahlendosis	25
3.6. Länge des Untersuchungsvolumens	26
3.7. Deskriptive Statistik	28
3.8. Varianzgleichheit Untersuchungsparameter	30
3.9. T-Test: Vergleich der Untersuchungsparameter zwischen den Ko- horten	31
3.10. Varianzgleichheit mikroskopische Auswertung	34
3.11. T-Test: Vergleich der Ergebnisse zwischen den Kohorten	34
3.12. Korrelationsanalyse	36
3.13. T-Test: Vergleich der Ergebnisse nach CT mit denen vor CT	37
A.1. Ergebnisse der mikroskopischen Auswertung	51

Abkürzungsverzeichnis

BIR	<i>break-induced replication</i>
CI	Konfidenzintervall
CIN	<i>contrast induced nephropathie</i> , kontrastmittelinduzierte Nephropathie
cs	<i>catalytic subunit</i> , katalytisch wirksame Untereinheit
CT	Computertomographie
CTDI	<i>computed tomography dose index</i>
CTDIvol	pitchkorrigierter CTDIw
CTDIw	gewichteter CTDI
DAPI	4',6-Diamidin-2-phenylindol (Fluoreszenzfarbstoff)
df	Freiheitsgrade
Diff.	Differenz
DLP	Dosis-Längen-Produkt
DNA	<i>deoxyribonucleic acid</i> , Desoxyribonukleinsäure
DNA-PK	DNA-Proteinkinase
DSB	Doppelstrangbruch
F	F-Wert
FBS	<i>fetal bovine serum</i> , fetales Kälberserum
FITC	Fluoresceinisothiocyanat

F/Z	Foci pro Zelle
GC	<i>gene conversion</i>
Geschl.	Geschlecht
Gew.	Gewicht
HR	<i>homologous recombination</i> , homologe Rekombination
J	Jahre
k.A.	keine Angaben
KM	Kontrastmittel
LSM	Lymphozytenseparationsmedium
m	männlich
MD	Mittlere Differenz
MW	Mittelwert
n	Anzahl
n. CT	nach der CT-Untersuchung
NHEJ	<i>nonhomologous endjoining</i> , nichthomologe Reparaturprozesse
p	p-Wert
PBS	<i>phosphate buffered saline</i> , phophatgepufferte Salzlösung
PFGE	Pulsfeld-Gelelektrophorese
RT	Raumtemperatur
RS	Röhrenstrom
SCGE	<i>single-cell gel electrophoresis</i> , Einzelzell-Gelelektrophorese
SD	Standardabweichung
SDSA	<i>synthesis-dependent strand annealing</i>

SED	Standardfehler der Differenz
SEM	Standardfehler des Mittelwertes
Sig.	Signifikanz
SSA	<i>single-strand annealing</i>
T	T-Wert
Uv	Ultravist (Kontrastmittel)
v. CT	vor der CT-Untersuchung
w	weiblich
Z.n.	Zustand nach

1. Einleitung

1.1. Die Computertomographie

Mit der Computertomographie wurde die radiologische Diagnostik revolutioniert. Sie bietet Medizinern detaillierte Einblicke in den menschlichen Körper. Ärzte unterschätzen jedoch meist die Strahlenbelastung der CT (Heyer u. a. 2007). Die Effektive Dosis für ein Thorax-CT liegt bei 5,8 mSV (Shrimpton u. a. 2006) bis 8 mSV (ICRP 2000) und ist damit bis zu 400-mal höher als eine konventionelle Röntgenaufnahme des Thorax (ICRP 2000).

1.1.1. Geschichte und Prinzip der Computertomographie

Lange vor der Erfindung des ersten Computers entstanden die mathematischen Grundlagen der Computertomographie mit der Entwicklung eines Rechenmodells durch den Mathematiker Johann Radon im Jahre 1917 (Radon 1917; Ullrich 2004). Die Reichweite seiner theoretischen Vorleistung war Radon damals jedoch nicht bewusst. 1963 erarbeitete sich Allen M. Cormack in Unkenntnis von Radons Arbeit (Cormack 1992) ebenfalls ein mathematisches Modell für die Absorption von Röntgenstrahlen durch menschliches Gewebe (Cormack 1963) und überprüfte dieses 1964 (Cormack 1964), indem er die Röntgenröhre um sein Objekt rotieren ließ. Letztlich war es dann Godfrey N. Hounsfield, der 1971 den ersten Computertomographen entwickelte. 1979 erhielt er dafür zusammen mit Cormack den Medizin-Nobelpreis.

Die Computertomographie ist ein Schnittbildverfahren, bei dem durch die Summe der Einzelschnitte ein dreidimensionales Bild des untersuchten Objektes entsteht. Mit Hilfe der Radon-Transformation (Radon 1917) lässt sich das einzelne zweidimensionale Schnittbild anhand des Absorptionsprofils rekonstruieren, welches nach Röntgenprojektionen aus verschiedenen Richtungen entsteht. Die verschiedenen Projektionsrichtungen lassen sich durch Rotationen der Röntgenröhre mit gegenüberliegendem Detektor um das zu untersuchende

Objekt realisieren. So lassen sich Gewebe und Organe überlagerungsfrei zweidimensional darstellen.

1.1.2. Dosisbegriffe in der Computertomographie

Im Unterschied zu anderen Verfahren der radiologischen Diagnostik wird der Patient bei der Computertomographie von mehreren Seiten aus exponiert. Und obwohl die Schichtdicke der Strahlenfelder nur wenige Millimeter beträgt, finden sich in Achsrichtung auch außerhalb der eigentlich untersuchten Schicht nennenswerte Strahlungsanteile. Diesen Besonderheiten der Computertomographie wird die Dosimetrie mit dem *Computed Tomography Dose Index (CTDI)* gerecht. Er bildet die Grundlage für die quantitative Beschreibung der Strahlenexposition, welche der Patient während einer computertomographischen Untersuchung erhält. Die Maßeinheit für den CTDI ist das Milligray (mGy). Der Hersteller des Computertomographen bestimmt den CTDI mit Hilfe von Phantommodellen. Diese mit destilliertem Wasser gefüllten Plexiglasbehälter sollen die Wasserverhältnisse im menschlichen Körper simulieren. Dabei werden in verschiedenen Bereichen des Modells periphere und ein zentraler Wert ermittelt, die sich zu einem Wert, dem gewichteten CTDI (CTDI_w), zusammenfassen lassen (Leitz u. a. 1995).

Der in den Ergebnissen dieser Arbeit angegeben CTDI_{vol} ist der pitchkorrigierte CTDI_w. Man erhält ihn durch Division des CTDI_w durch den Pitchfaktor:

$$\text{CTDI}_{\text{vol}} = \text{CTDI}_{\text{w}} / \text{Pitch}$$

Der Pitchfaktor ist dimensionslos und lässt sich aus Tischvorschub und Schichtdicke ermitteln.

Eine weitere Dosisgröße der Computertomographie ist das Dosis-Längen-Produkt (DLP). Analog zum Dosis-Flächen-Produkt in der konventionellen Strahlendiagnostik beschreibt es die gesamte Strahlenexposition während einer Untersuchung. Man erhält es durch Multiplikation des CTDI mit der Länge des untersuchten Volumens. Bei Untersuchungen mit mehreren Scanserien ergibt sich das Total-DLP aus der Summe der DLP der Einzelserien. Als Einheit wird mGy*cm (Milligray*Zentimeter) verwendet. Aus dem DLP lässt sich über einen Konversionsfaktor die Effektive Dosis abschätzen (Huda u. a. 2008).

Der CTDI_{vol} und das DLP sind somit die beiden wichtigsten Kenndaten zur Beschreibung der Strahlenexposition im Rahmen einer computertomographi-

schen Untersuchung. Bei aktuellen Geräten werden die beiden Werte auf einer Dosisanzeige angegeben.

1.1.3. Kontrastmittel in der Computertomographie

Da sich einige Regionen im Körper hinsichtlich ihrer Dichte kaum unterscheiden, werden in der Computertomographie indikationsabhängig Kontrastmittel eingesetzt, die sich in den gewünschten Strukturen anreichern und dort zu einer veränderten Röntgenabsorption führen. So lassen sich diese Strukturen deutlicher darzustellen und dadurch mehr Informationen für die Diagnosestellung gewinnen. Durch ihre stärkere Absorption von Röntgenstrahlung (röntgenpositive Kontrastmittel) eignen sich beispielsweise jodhaltige Kontrastmittel dazu, Gefäße kontrastreicher und damit abgrenzbarer gegenüber ihrer Umgebung darzustellen (Hertrich 2004). Neben Jod führt auch Barium zu einer verstärkten Absorption. Gasförmige röntgennegative Kontrastmittel wie Kohlendioxid oder Luft verringern dagegen die Röntgenabsorption.

Jodhaltige Kontrastmittel werden intravasal appliziert und können so zu einer Vielzahl systemischer Nebenwirkungen führen. Sie lassen sich in organspezifische und generelle Nebenwirkungen einteilen (Namasivayam u. a. 2006). Die kontrastmittelinduzierte Nephropathie (contrast induced nephropathie, CIN) ist die bedeutendste Nebenwirkung jodhaltiger Kontrastmittel (Becker 2007). Besonders bei Risikopatienten kann die CIN im schlimmsten Fall zum akuten Nierenversagen führen (McCullough u. a. 2006). Auch Schilddrüsendysfunktionen sind eher bei Risikopatienten zu erwarten. Weitere Nebenwirkungen können anaphylaktoide Reaktionen, oder Gewebsreaktion nach Extravasation sein. Bei der anaphylaktoiden Reaktion kommt es ohne Sensibilisierung zum klinischen Bild der Anaphylaxie, da die Freisetzung der Mediatoren meist auf eine physikalische, chemische oder osmotische Reizung zurückzuführen ist (Müller-Werdan, Werdan 2000). So ist auch bei Patienten ohne bekannte Kontrastmittelallergie mit Reaktionen zu rechnen, wobei die Prävalenz für das Auftreten von moderaten und schweren anaphylaktoiden Reaktionen durch nichtionische Kontrastmittel bei 0,4 % bzw. 0,04 % liegt und durch ionische Kontrastmittel um den Faktor 5 steigt (Namasivayam u. a. 2006). Extravasationen führen nur selten und bei größeren Mengen zu moderaten oder schweren Gewebsreaktionen (Wang u. a. 2007).

1.2. Auswirkungen ionisierender Strahlung auf die DNA

Ionisierende Strahlung kann eine direkte oder indirekte Wirkung auf die Zelle haben, wobei bei Röntgenstrahlung die indirekte Wirkung überwiegt (Pauly u. a. 1966). Die direkte Strahlenwirkung kennzeichnet, dass die Ionisierung direkt in der DNA erfolgt und dort beispielsweise durch das Aufbrechen kovalenter Bindungen zu Einzel- und Doppelstrangbrüchen führt. Bei der indirekten Strahlenwirkung trifft die ionisierende Strahlung auf Wassermoleküle in der Zelle. Diese werden durch Ablösung eines Elektrons zu kurzlebigen, hochreaktiven Radikalen, die mit weiteren Wassermolekülen zu einem Hydronium-Ion und einem Hydroxyl-Radikal reagieren (Radiolyse). Solche Hydroxyl-Radikale können bei Reaktion mit der DNA ebenfalls zu DNA-Schäden führen (Chatgililoglu, O'Neill 2001). Unabhängig davon, ob die ionisierende Strahlung direkt oder indirekt an der DNA wirkt, kommt es zum gleichen Spektrum an Strahlenschäden (Ward 1985). DNA-Schäden durch ionisierende Strahlung können Einzel- und Doppelstrangbrüche, Veränderungen an den Basen oder am Zuckergerüst sowie DNA-Protein-Vernetzungen und Verknüpfungen innerhalb der DNA sein (Powell, McMillan 1990).

1.2.1. DNA-Doppelstrangbrüche

Im Vergleich zu den anderen strahleninduzierten DNA-Schäden treten Doppelstrangbrüche (DSB) seltener auf (Powell, McMillan 1990). Dennoch sind strahleninduzierte Doppelstrangbrüche eine der bedeutendsten Ursachen für die Entstehung von Mutationen (Ward 1995; Zhang u. a. 2007). Ihre Reparatur ist für die Zelle schwieriger als die anderer DNA-Schäden (Khanna, Jackson 2001). Werden Doppelstrangbrüche nicht oder fehlerhaft repariert, kann dies zur Karzinogenese führen (van Gent u. a. 2001; Zhang u. a. 2007).

1.2.2. Die Reparatur von DNA-Doppelstrangbrüchen

Bei der Reparatur von DNA-Doppelstrangbrüchen können die Prozesse der Homologen Rekombination (homologous recombination - HR) von nichthomologen Reparaturprozessen (nonhomologous endjoining - NHEJ) unterschieden werden (Pardo u. a. 2009). Beide Reparaturwege werden von der eukaryotischen Zelle verwendet. Welches Verfahren überwiegt, hängt von der Genetik des Organismus und der Phase des Zellzyklus ab (Haber 2000).

Homologe Rekombination (HR)

Die Verfahren der Homologen Rekombination erfordern das Vorhandensein einer homologen Sequenz an gleicher oder ektopisch gelegener Stelle in einem Schwesterchromatid oder homologen Chromosom (Kanaar u. a. 1998). Diese homologe Sequenz dient als Vorlage für die Wiederherstellung der verlorengegangenen Information. Es werden konservative (gene conversion - GC und synthesis-dependent strand annealing - SDSA) von nicht konservativen (single-strand annealing - SSA und break-induced replication - BIR) Verfahren unterschieden. Die konservativen Verfahren zeichnen sich durch eine geringere Mutagenität aus (Haber 2000).

Alle homologen Verfahren beginnen mit der Degradierung der Endstücke des DSBs durch eine 5'-3'-Exonuklease zu Einzelsträngen (Haber 2000; Dudás, Chovanec 2004). Mit Hilfe des RAD51-Proteins werden die Einzelstrangüberhänge stabilisiert. Bei den konservativen Verfahren und dem BIR katalysiert das RAD51-Protein anschließend die Invasion eines Einzelstrangüberhangs in den homologen Bereich des Schwesterchromatids. Dabei muss der eindringende Strang einen Strang des Schwesterchromatids verdrängen, um die komplementäre Sequenz zu erreichen. Die dabei entstehende Überkreuzung des eindringenden mit dem verdrängten Strang wird als Holliday-Struktur bezeichnet. Durch die Rückführung des Einzelstrangs entstehen bei der GC zwei Holliday-Strukturen (Doppel-Holliday-Struktur), deren Auflösung mit und ohne Sequenzaustausch (crossing over) erfolgen kann. Bei SDSA und BIR wird nur eine Hollidaystruktur gebildet, wobei der Strang bei der SDSA nur kurzzeitig in den homologen Bereich eindringt und bei der BIR nicht mehr zurückwechselt. Im Gegensatz zu den anderen drei Verfahren kommt es beim SSA nicht zum Strangaustausch. Die Einzelstrangüberhänge homologer Sequenzen des gleichen oder eines unterschiedlichen Chromosoms flankieren und lagern sich einander an. Nach der Hybridisierung werden nicht-homologe Bereiche und Wiederholungen entfernt sowie Lücken aufgefüllt. Dabei kann es durch Deletionen und Fehlverknüpfungen zum Informationsverlust kommen, was die höhere Mutagenität der SSA erklärt (Pardo u. a. 2009).

Nichthomologes Endjoining (NHEJ)

Im Gegensatz zu den Verfahren der Homologen Rekombination werden beim Nichthomologen Endjoining keine homologen Sequenzen benötigt (Helleday 2003)

oder beim sogenannten mikrohologie-gerichteten Endjoining nur kurze Homologien der beiden Bruchenden genutzt (Kanaar u. a. 1998; Haber 2000). Zur Fixierung und zur Ausrichtung der Enden binden Heterodimere aus den Proteinen Ku70 und Ku80. Diese Heterodimere ermöglichen die Rekrutierung von DNA-PKcs, der katalytisch wirksamen Untereinheit (catalytic subunit, cs) der DNA-Proteinkinase (DNA-PK) (Ramsden, Gellert 1998), und des Ligase IV/XRCC4-Komplexes (Nick McElhinny u. a. 2000). Durch das Entfernen überzähliger oder das Hinzufügen fehlender Nukleotide werden die Bruchenden so modifiziert, dass sie ligiert werden können. Die Modifikation kann jedoch bei fehlerhaftem Verlauf zum Informationsverlust führen (Burma u. a. 2006).

1.2.3. Quantifizierung von DNA-Doppelstrangbrüchen mittels γ H2AX-Methode

Es gibt verschiedene Methoden zur Quantifizierung von DNA-Doppelstrangbrüchen, die immer wieder in Studien ihre Anwendung finden. Dazu gehören unter anderem die Pulsfeld-Gelelektrophorese (PFGE) (Ager, Dewey 1990; Pinto u. a. 2000), die Einzelzell-Gelelektrophorese (SCGE oder Comet Assay) (Östling, Johanson 1984), die TUNEL-Methode (Gavrieli u. a. 1992) und die γ H2AX-Methode (Roch-Lefèvre u. a. 2010). Den Goldstandard für die Quantifizierung von Doppelstrangbrüchen stellt dabei die γ H2AX-Methode dar (Fernandez-Capetillo u. a. 2004; Takahashi, Ohnishi 2005). Ihre Vorteile liegen in ihrer hohen Sensitivität im niedrigen Dosisbereich, wie er in der Strahlendiagnostik verwendet wird, wodurch sie sich besonders dazu eignet, DNA-Doppelstrangbrüche nach Strahlenexposition im Rahmen einer computertomographischen Untersuchung zu quantifizieren (Rothkamm u. a. 2007).

γ H2AX ist eine Histonmodifikation der Histonvariante H2AX. Histone sind Proteine, die bei der Verpackung der DNA im Zellkern benötigt werden. Während die Haupt-Histone H2A, H2B, H3 und H4 am Aufbau des Nukleosoms beteiligt sind, markiert H1 die Stelle, an der sich die DNA um das Nukleosom wickelt. Darüber hinaus besitzen Histone auch Regulationsfunktionen für Prozesse an der DNA. H2A lässt sich in die drei Varianten H2A1-H2A2, H2AX und H2AZ unterteilen, wovon H2AX einen Anteil 2-25 % bildet (Rogakou u. a. 1998). Kommt es durch Einwirkung ionisierender Strahlung zum DNA-Doppelstrangbruch, wird H2AX an seinem Serinrest 139 phosphoryliert (Rogakou u. a. 1998; Redon u. a. 2002). Diese Modifikation wird als γ H2AX bezeichnet. Mit einem

spezifischen γ H2AX-Antikörper lässt sich durch Immunfluoreszenzmikroskopie diese Histonmodifikation in Form eines sogenannten γ H2AX-Focus visuell sichtbar machen (Rogakou u. a. 1999). Dabei entspricht ein γ H2AX-Focus jeweils einem DNA-Doppelstrangbruch (Sedelnikova u. a. 2002) und der Verlust eines γ H2AX-Focus durch Dephosphorylierung der Reparatur eines DNA-Doppelstrangbruchs (Löbrich u. a. 2005), was es ermöglicht, die DNA-Doppelstrangbrüche mit dieser Methode zu quantifizieren.

1.3. Ableitung der Fragestellung

Zu den Auswirkungen, die die Applikation jodhaltiger Kontrastmittel im Rahmen radiologischer Untersuchungen auf die DNA hat, gibt es verschiedene Untersuchungen. Es zeigte sich in vitro, dass bei menschlichen Lymphozyten eine vermehrte Anzahl von Chromosomenaberrationen und Mikrokernen auftreten, wenn vor der Bestrahlung mit Röntgenstrahlung jodhaltiges Kontrastmittel hinzu gegeben wird (Norman u. a. 1978; Matsudaira u. a. 1980; Hadnagy u. a. 1982; Matsubara u. a. 1982). Auch in vivo konnte dieser Effekt bestätigt werden (Adams u. a. 1978; Cochran u. a. 1980; Stephan, Hadnagy 1981; Matsubara u. a. 1982; Mozdarani, Fadaei 1998). Ebenso konnte ein Anstieg von DNA-Doppelstrangbrüchen nach Applikation von Röntgenkontrastmitteln bei Bestrahlung in vitro (Joubert u. a. 2005; Jost u. a. 2009; Grudzenski u. a. 2009; Pathe u. a. 2011) und in vivo (Grudzenski u. a. 2009; Pathe u. a. 2011) beobachtet werden. Eine Verabreichung des Kontrastmittels nach der Bestrahlung oder die Kombination von Kontrastmittel und Gammastrahlung führte in vitro zu keinem Zuwachs von DNA-Doppelstrangbrüchen (Grudzenski u. a. 2009).

Bei den Erklärungsversuchen des Kontrastmittel-Effektes gibt es verschiedene Ansätze. Zum einen wird davon ausgegangen, dass das in den Kontrastmitteln enthaltene Jod zu einer Verstärkung des Photoeffekts führt und damit vermehrt Sekundärstrahlung emittiert wird (Matsudaira u. a. 1980; Hadnagy u. a. 1982), was wiederum die vom Gewebe absorbierte Strahlendosis erhöht (Callisen u. a. 1979; Santos Mello u. a. 1983; Matsudaira u. a. 1980; Hadnagy u. a. 1982). Zum anderen gibt es den Ansatz, dass durch Radiolyse entstehende Spaltprodukte zytotoxisch wirken und die DNA-Reparatur negativ beeinflussen (Joubert u. a. 2005). Es gibt auch Beobachtungen, die auf einen schädigenden Effekt des Kontrastmittels in Abwesenheit von Strahlung hinweisen (Parvez u. a. 1986; Parvez u. a. 1987).

Diese Erkenntnisse über jodhaltige Kontrastmittel und die Tatsache, dass strahleninduzierte DNA-Doppelstrangbrüche eine bedeutende Ursache für die Entstehung von Mutationen sind (Zhang u. a. [2007](#)), führen zur Fragestellung dieser Arbeit: Hat die Applikation von jodhaltigem Kontrastmittel im Rahmen computertomographischer Thorax-Untersuchungen einen quantitativen Einfluss auf das Auftreten von DNA-Doppelstrangbrüchen in vivo?

2. Material und Methoden

2.1. Patienten

Im Rahmen der Studie wurden 233 Patienten untersucht, wobei 12 Patienten zweimal innerhalb des Untersuchungszeitraums an der Studie teilnahmen. So setzt sich die Studienkohorte aus insgesamt 245 Patienten zusammen. Bei 179 Patienten wurde eine kontrastmittelgestützte CT-Untersuchung des Thorax durchgeführt.

Alle Patienten wurden innerhalb des Untersuchungszeitraums vom 15.12.2009 bis 10.10.2011 in der Klinik für Strahlendiagnostik des Universitätsklinikum Marburg aufgeklärt und untersucht. Als Einschlusskriterium zur Teilnahme an der Studie galt die Indikation zur Computertomographie des Thorax. Dabei sollten alle Patienten, welche zur Computertomographie des Thorax in der Klinik für Strahlendiagnostik angemeldet wurden, aufgeklärt und bei Einwilligung eingeschlossen werden. Dies galt nur, wenn die unten aufgeführten Ausschlusskriterien nicht zutrafen. Dabei hing die Kontrastmittelgabe nicht vom Studienprotokoll, sondern von der klinischen Indikation ab. Beispielsweise wurden Patienten mit den Fragestellungen nach einer pulmonalen Embolie oder mediastinalen Lymphknotenmetastasen mit Kontrastmittel, solche mit den Fragestellungen nach einer Lungengerüsterkrankung oder Pneumonie ohne Kontrastmittel untersucht.

Folgende Ausschlusskriterien für die Teilnahme an der Studie wurden festgelegt:

- Z.n. oder aktuelle Leukämie oder Lymphom (Weitere Tumorentitäten sollten nicht ausgeschlossen werden, da in dieser Studie periphere Lymphozyten analysiert werden sollten, und andere Tumorentitäten keinen Einfluss auf diese haben sollten.)
- Strahlentherapie innerhalb der letzten 6 Monate

- Chemotherapie innerhalb der letzten 6 Monate
- Röntgenuntersuchung oder Szintigraphie innerhalb der letzten 3 Tage
- Alter unter 18 Jahre
- nicht einwilligungsfähig

Die Blutabnahme erfolgte unmittelbar vor und nach der computertomographische Untersuchung durch die Ärzte der Klinik für Strahlendiagnostik. Es wurde insgesamt maximal 10 ml Blut pro Patient abgenommen (5 ml vor der CT-Untersuchung und 5 ml danach).

Die Studie wurde der Ethikkommission des Fachbereichs Medizin der Philipps-Universität Marburg zur Prüfung vorgelegt. Ein positives Ethikvotum vom 13.11.2009 liegt vor (Studie 154/09).

2.2. Material

Die verwendeten Geräte, Verbrauchsmaterialien und eingesetzte Software sind in der nachfolgenden Tabelle aufgeführt.

Tabelle 2.1.: **Liste der verwendeten Geräte und Verbrauchsmaterialien**

Computertomographie

Somatom Sensation 64-slice dual-source CT	Siemens Medical Solutions (Forchheim, Deutschland)
--	---

Kontrastmittel Ultravist 300 und 370	Bayer Vital GmbH (Leverkusen, Deutschland)
---	---

Blutentnahme

S-Monovette AH 5,5 ml	Sarstedt AG & Co. (Nümbrecht, Deutschland)
-----------------------	---

Venenpunktionsbesteck Safety-Multifly Set	Sarstedt AG & Co. (Nümbrecht, Deutschland)
--	---

Tabelle 2.1.: Fortsetzung

Zentrifuge

Labofuge 400	Heraeus GmbH (Hanau, Deutschland)
--------------	-----------------------------------

Kühlschränke

Gefrierschrank -20°C	Robert Bosch GmbH (München, Deutschland)
----------------------	---

Kühlschrank 4°C	Liebherr GmbH (Biberach an der Riss, Deutschland)
-----------------	--

Sterile Werkbank

Hera Safe	Heraeus GmbH (Hanau, Deutschland)
-----------	-----------------------------------

Sonstige Geräte und Verbrauchsmaterialien

50 ml Zentrifugenröhre	Sarstedt AG & Co. (Nümbrecht, Deutschland)
------------------------	---

Einmal-Glaspipette	Hirschmann Laborgeräte GmbH & Co.KG (Eberstadt, Deutschland)
--------------------	---

PAP pen Liquidblocker	Sigma-Aldrich Chemie GmbH (Steinheim, Deutschland)
-----------------------	---

Superfrost Objektträger	Gerhard Menzel GmbH (Braunschweig, Deutschland)
-------------------------	--

Deckgläser	Gerhard Menzel GmbH (Braunschweig, Deutschland)
------------	--

Immersionsöl	Carl Zeiss AG (Jena, Deutschland)
--------------	-----------------------------------

Tabelle 2.1.: Fortsetzung

Chemikalien

Mountingmedium	Carl Roth GmbH & Co.KG
Roti-Mount FluorCare mit DAPI	(Karlsruhe, Deutschland)
Lymphozyten-separationsmedium LSM 1077	PAA (Cölbe, Deutschland)
Dulbeccos PBS	PAA (Cölbe, Deutschland)
Fetal Bovine Serum FBS	PAA (Cölbe, Deutschland)
Triton-X 100	Carl Roth GmbH & Co.KG (Karlsruhe, Deutschland)
Aceton und Methanol	Sigma-Aldrich Chemie GmbH (Steinheim, Deutschland)

Antikörper

Primärer Antikörper:	Millipore GmbH
Anti-phospho-Histone H2A.X (Ser139), clone JBW301	(Schwalbach am Taunus, Deutschland)
Sekundärer Antikörper:	Cell Signaling Technology, Inc.
Anti-mouse IgG (H+L), F(ab') ₂ Fragment (Alexa Flour 488 Conjugate)	(Danvers, USA)

Mikroskop

Axio Observer Z1	Carl Zeiss AG (Jena, Deutschland)
------------------	-----------------------------------

Tabelle 2.1.: Fortsetzung

Software

AxioVision 4.8.2	Carl Zeiss AG (Jena, Deutschland)
PASW Statistics 18 (SPSS)	IBM SPSS (New York, USA)
MS Excel 2007	Microsoft Corporation (Redmond, USA)
MS Access 2007	Microsoft Corporation (Redmond, USA)
MS Word 2007	Microsoft Corporation (Redmond, USA)
L ^A T _E X Miktex 2.9	open source

2.3. Computertomographie

Wie in Kapitel 2.1 schon erwähnt wurde, hatten alle teilnehmenden Patienten eine Indikation zur computertomographischen Thoraxuntersuchung. Zur Anwendung kam ein Dual-source Multislice-CT der Firma Siemens (Somatom Sensation 64-slice dual-source CT). Die Untersuchungen wurden mit einer Röhrenspannung von 120 kV und einem durchschnittlichen Röhrenstrom von 2304 mAs durchgeführt. Das durchschnittliche Dosis-Längen-Produkt lag bei 312 mGy*cm und der durchschnittliche CTDIvol bei 8,47 mGy. Die Kontrastmittelgabe hing von der jeweiligen klinischen Indikation ab. 128 Patienten erhielten durchschnittlich 50 ml Ultravist 370 (370 mg/ml gebundenes Iod) und 51 Patienten erhielten durchschnittlich 60 ml Ultravist 300 (300 mg/ml gebundenes Iod). Bei 66 Patienten gab es keine Indikation für eine Untersuchung mit Röntgenkontrastmittel.

2.4. Lymphozytenseparation und Fixierung

Nach der Blutentnahme wurden die Proben direkt weiterverarbeitet. Die Lymphozyten wurden mittels Dichtegradienten-Zentrifugation aus den Vollblutproben separiert. Bei der Dichtegradienten-Zentrifugation werden die Lymphozyten aufgrund ihrer unterschiedlichen Dichte von Erythrozyten, Granulozyten

und Plasma getrennt. Nach der Zentrifugation reichern sich die Lymphozyten (Dichte ca. 1,07 g/ml) in einer Interphase zwischen Ficoll-Separationsmedium (die Dichte von LSM 1077 liegt bei 1,077 g/ml) und Plasma (Dichte ca. 1,03 g/ml) an, während sich Granulozyten (Dichte ca. 1,08 g/ml) und Erythrozyten (Dichte ca. 1,10 g/ml) unterhalb der Ficollphase ablagern (siehe Abbildung 2.1 auf Seite 14).

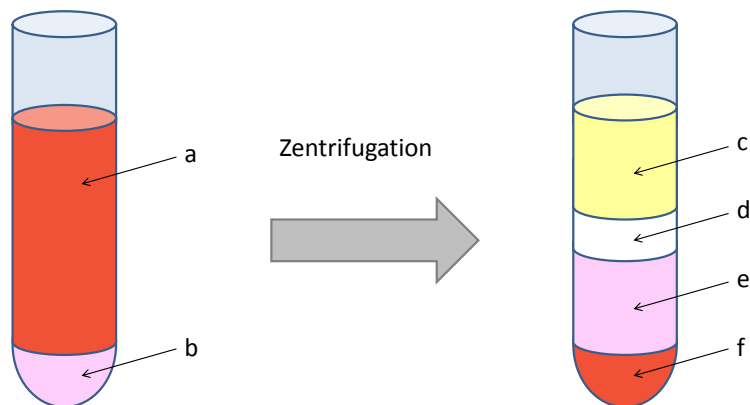


Abbildung 2.1.:

Dichtegradienten-Zentrifugation. Links der Zustand vor Zentrifugation: a) heparinisiertes Vollblut - b) Separationsmedium; rechts die Schichtung nach Zentrifugation: c) Plasma - d) Interphase (angereicherte Zellfraktion aus Lymphozyten) - e) Ficollphase (Separationsmedium) - f) Pellet (Erythrozyten und Granulozyten)

Vorbereitend wurden die Zentrifugenröhrchen mit 3 ml des auf Raumtemperatur (RT) gebrachten Separationsmedium (LSM 1077) befüllt. Anschließend wurde das Separationsmedium in den Zentrifugenröhrchen mit 3-5 ml des antikoagulierten Patientenblutes direkt aus den Blutabnahmeröhrchen (S-Monovette 5,5 ml AH) überschichtet und 10 Minuten bei 1000 x g und RT im Ausschwingrotor ohne Bremse zentrifugiert. Es ergab sich die in Abbildung 2.1 auf Seite 14 dargestellte Schichtung. Nun konnte man, nachdem die Plasmaschicht abgehoben und verworfen wurde, die Lymphozyten aus der Interphase mittels Einmal-Glaspipette in ein frisches Zentrifugenröhrchen ernten. Die gewonnenen Lymphozyten wurden im Anschluss mit 10 ml PBS bei 250 x g in der Zentrifuge für 10 Minuten gewaschen. Dieser Schritt wurde zweimal wiederholt.

Um später ein Auseinanderfließen der Antikörper-Lösung, welche bei der Immunfluoreszenzfärbung aufgebracht wird, zu verhindern, wurden die Objektträger mit Liquidblocker (PAP pen) vorbereitet. Nun wurden die geerntete und gewaschene Lymphozytenfraktion auf die vorbereiteten Objektträger aufgetropft und unter dem Mikroskop auf ihre gleichmäßig verteilte Zelldichte kontrolliert. Nach Lufttrocknung der Proben wurde sie bei -20°C 20 Minuten mit Methanol und 1 Minute mit Aceton fixiert. Abschließend erfolgte erneut eine Lufttrocknung.

2.5. Immunfluoreszenzfärbung

Nach der Separation der Lymphozyten aus dem Vollblut und der Fixierung der Proben folgte die Färbung der Proben. Zuerst wurden die Proben dreimal für 10 Minuten mit PBS gespült. Um die Zellen zu permeabilisieren, wurden die Proben mit 1 % Triton-X 100 in PBS für 30 Minuten bei RT inkubiert. Die unspezifischen Bindungen wurden anschließend mit 10 % fetalem Kälberserum (FBS) in PBS bei RT blockiert. Eine erneute dreimalige Spülung der Proben für 10 Minuten mit PBS schloss sich an. Die Inkubation der Proben mit dem Primärantikörper in einer 1:400 Verdünnung (1 Teil Primärantikörper zu 399 Teilen PBS mit 1 % FBS) erfolgte bei 4°C über Nacht. Wiederum wurde dreimal für 10 Minuten mit PBS gespült. Der Sekundärantikörper wurde ebenfalls in einer 1:400 Verdünnung (1 Teil Sekundärantikörper zu 399 Teilen PBS mit 1 % FBS) für 1 Stunde bei RT aufgebracht. Anschließend wurde letztmalig dreimal für 10 Minuten mit PBS gespült. Eingedeckt wurden die Proben mit dem Mountingmedium Roti-Mount FluorCare, welches DAPI enthält und die gleichzeitige Gegenfärbung der Zellkerne ermöglicht. Nach Aufbringen des Deckgläschens waren die Proben bereit für die mikroskopische Auswertung.

2.6. Mikroskopische Auswertung

Jede Probe war verschlüsselt, sodass es dem Untersucher zu keiner Zeit möglich war, zu erkennen, ob die Probe von einem Patienten mit oder ohne Kontrastmittelgabe bzw. von vor oder nach der computertomographischen Untersuchung entnommenem Blut stammt. Mikroskopiert wurde in einem abgedunkelten Raum an einem Fluoreszenzmikroskop mit Kamera (Axio Observer Z1), was

es ermöglichte, das Gesehene fotodokumentarisch festzuhalten. Bei der Fluoreszenzmikroskopie wird der Fluoreszenzfarbstoff mit Licht einer bestimmten Wellenlänge angeregt (Absorptionswellenlänge), welches er dann in einer anderen Wellenlänge wieder abstrahlt (Emissionswellenlänge). Durch einen auf den Farbstoff abgestimmten Filter im Mikroskop wird nur Licht mit der Emissionswellenlänge des Farbstoffs zum Beobachter durchgelassen, sodass nur die gefärbten Strukturen sichtbar werden. Der Farbstoff Alexa Flour 488 antibody conjugate, der zur Immunfluoreszenzfärbung der γ H2AX-Foci verwendet wurde, hat sein Absorptionsmaximum bei einer Wellenlänge von 499 nm und sein Emissionsmaximum bei 520 nm. Zur Visualisierung der γ H2AX-Foci wurde der FITC-Filter verwendet. An verschiedenen Stellen der Probe wurde ein zufällig

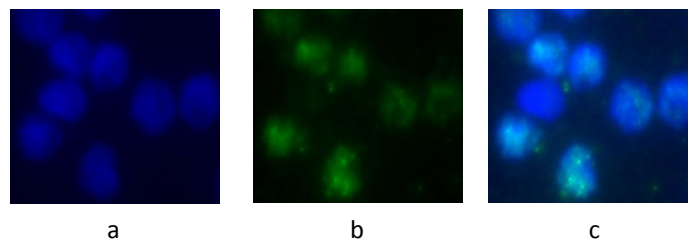


Abbildung 2.2.:

Mikroskopische Aufnahmen. Die dargestellten Bilder sind Ausschnitte aus den Aufnahmen des Mikroskopes, die aus Gründen der Übersicht zugeschnitten wurden. a) 630-fache Vergrößerung in Öl durch DAPI-Filter - b) 630-fache Vergrößerung in Öl durch FITC-Filter - c) Bild a und b übereinandergelegt

ausgewählter Ausschnitt bei 630-facher Vergrößerung mit Immersionsöl durch den FITC-Filter betrachtet und abfotografiert (siehe Abbildung 2.2 b auf Seite 16). Um nur die gefärbten Foci auszuwerten, die auch innerhalb des Zellkernes liegen, wurde ein Foto des gleichen Ausschnitts bei gleicher Vergrößerung in Öl mit dem DAPI-Filter für die DAPI-Färbung (Absorptionsmaximum bei 359 nm und Emissionsmaximum bei 461 nm) der Zellkerne gemacht (siehe Abbildung 2.2 a). Anschließend wurden die beiden Bilder mit Hilfe einer Software (AxioVision) übereinander gelegt (siehe Abbildung 2.2 c). Dabei stellten sich optisch die Zellkerne blau (DAPI-Filter) und die γ H2AX-Foci grün (FITC-Filter) dar (siehe Abbildung 2.3 auf Seite 17). Jeder so erstellte Ausschnitt konnte nun per Auge ausgezählt werden. Es wurden mindestens 40 Foci und 40 Zellen ausgezählt. Wurden 200 Zellen gezählt ohne dabei einen Focus zu entdecken, wurde

nicht weitergezählt. Monozyten wurden anhand morphologischer Kriterien ausgeschlossen.

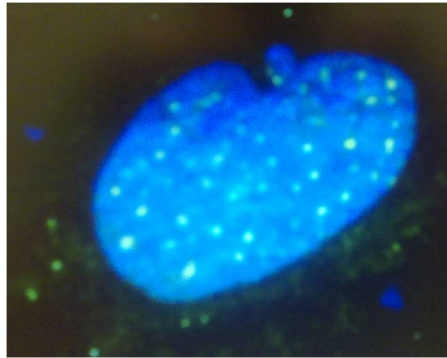


Abbildung 2.3.: Lymphozytenzellkern mit γ H2AX-Foci

2.7. Biostatistische Methoden

Ziel der statistischen Auswertung war es, zu überprüfen, ob der Zuwachs an γ H2AX-Foci pro Lymphozyt nach der computertomographischen Untersuchung bei den Patienten mit Kontrastmittelgabe im Mittel größer ist als bei den Patienten ohne Kontrastmittelgabe. Hierzu wurde die Differenz zwischen Foci pro Zelle nach CT und Foci pro Zelle vor CT für jeden Patienten berechnet und der Mittelwert darüber für die beiden Kohorten (mit und ohne Kontrastmittel) verglichen. Dieser Vergleich wurde mittels t-Test für unabhängigen Stichproben durchgeführt. Die Gleichheit der Varianzen wurde mit dem Levene-Test überprüft. Als Arbeitshypothese für den t-Test wurde von einer Mittelwertsgleichheit der beiden Gruppen ausgegangen. Die Alternativhypothese war gerichtet und unspezifisch, da ein höherer Mittelwert bei der Gruppe mit Kontrastmittelgabe erwartet wurde, jedoch der Betrag der Mittelwertserhöhung im voraus nicht bekannt war. Bei einem Signifikanzniveau von 5 % und einem Konfidenzintervall von 95 % wurde die Arbeitshypothese mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 5\%$ zugunsten der Alternativhypothese abgelehnt. Zur Kontrolle des ausgewählten statistischen Verfahrens wurden mit einem t-Test für abhängige Stichproben (gepaart) sowohl für die Gruppe mit als auch die Gruppe ohne Kontrastmittelgabe die Mittelwerte vor Untersuchung mit denen nach der Untersuchung verglichen. Hier wurde eine Ablehnung der Arbeitshypothese, dass ein Mittelwertsunterschied nur zufälliger Natur ist, zugunsten der

Altentivhypothese erwartet. Weiterhin wurde der Mittelwert zwischen den beiden Kohorten zu den beiden Zeitpunkten (vor und nach der Untersuchung) in einem t-Test für unabhängige Stichproben überprüft. Auch hier wurde eine Ablehnung der Arbeitshypothese erwartet. Um zu überprüfen, ob beide Kohorten die gleichen Voraussetzungen hatten, wurden die Untersuchungsparameter, wie DLP, CTDIvol und die Länge des Untersuchungsvolumens mittels t-Test für unabhängige Stichproben verglichen. Alle statistischen Auswertungen wurden mit PASW Statistics 18 (IBM SPSS) durchgeführt und für die Datenorganisation wurde MS Access 2007 und MS Excel 2007 verwendet.

Übersicht der angewendeten statistischen Verfahren

Vergleich der Untersuchungsparameter zwischen den Kohorten

t-Test mit unabhängigen Stichproben; Tabelle 3.9

Vergleich durchschnittlicher F/Z-Zuwachs zwischen den Kohorten

t-Test mit unabhängigen Stichproben; Tabelle 3.11

Vergleich MW F/Z nach CT zwischen den Kohorten

t-Test mit unabhängigen Stichproben; Tabelle 3.11

Vergleich MW F/Z vor CT zwischen den Kohorten

t-Test mit unabhängigen Stichproben; Tabelle 3.11

Vergleich MW F/Z ohne KM zwischen vor und nach CT

t-Test mit abhängigen Stichproben; Tabelle 3.13

Vergleich MW F/Z mit KM zwischen vor und nach CT

t-Test mit abhängigen Stichproben; Tabelle 3.13

Tabelle 2.2.:

Angewendete statistische Verfahren. Abkürzungen: F/Z = Foci/Zelle; MW = Mittelwert; KM = Kontrastmittel

3. Ergebnisse

Nachfolgend werden zum einen die Charakteristika der Patienten und zum anderen die Ergebnissen der mikroskopischen Auswertung, sowie deren schließende Statistik dargestellt.

3.1. Charakteristika der Patienten

Insgesamt umfasste die Studienkohorte 245 Patienten, wovon 179 eine CT-Untersuchung mit Kontrastmittel erhielten (Kohorte mit KM). Bei 51 Patienten wurden durchschnittlich 60 ± 9 ml (MW \pm SD) Ultravist 300 (300 mg/ml gebundenes Iod) und bei 128 Patienten 51 ± 6 ml Ultravist 370 (370 mg/ml gebundenes Iod) als Kontrastmittel verwendet. Folglich ist die absolut erhaltene Konzentration des gebundenen Iodes für beide Patientengruppen mit durchschnittlich 18088 ± 2690 mg Ultravist 300 und 18876 ± 2015 mg Ultravist 370 pro Patient annähernd gleich. Eine CT-Untersuchung ohne Kontrastmittelgabe erfolgte bei 66 Patienten (Kohorte ohne KM).

Das Durchschnittsalter lag zum Untersuchungszeitpunkt sowohl in den beiden Kohorten (mit und ohne Kontrastmittel) als auch insgesamt bei 64 Jahren (siehe Tabelle 3.1 auf Seite 21). Der jüngste Patient war 19 Jahre und die älteste Patientin 89 Jahre alt. Knapp 40 % der Patienten waren weiblich.

220 Patienten hatten eine Angabe zum Körpergewicht und 222 zur Körpergröße gemacht (siehe Tabelle 3.3 auf Seite 23 und Tabelle 3.2 auf Seite 22). Die durchschnittliche Größe lag bei 171 ± 9 cm und das Durchschnittsgewicht bei 80 ± 17 kg. In der Kohorte mit Kontrastmittel waren die Patienten durchschnittlich 170 ± 9 cm groß und 79 ± 18 kg schwer. Die Patienten ohne Kontrastmittel wogen durchschnittlich 84 ± 16 kg und waren im Mittel 172 ± 9 cm groß.

Die Mittelwertunterschiede zwischen den Kohorten bei Alter, Größe und Gewicht waren bei einem Signifikanzniveau von $\alpha=0,05$ nicht signifikant.

Das DLP ergibt sich, wie schon in Kapitel 1.1.2 erwähnt, aus der Multiplikation des CTDIvol mit der Länge des Untersuchungsvolumens. Die Werte des

DLP wurde ebenso wie die des CTDIvol vom Computertomographen ausgegeben und dokumentiert. Für die Kohorte mit Kontrastmittelgabe wurde ein durchschnittliches DLP von 301 ± 120 mGy*cm (siehe Tabelle 3.4 auf Seite 24) ermittelt. In der Kohorte ohne Kontrastmittel war das durchschnittliche DLP mit 342 ± 116 mGy*cm höher. Insgesamt wurde ein durchschnittliches DLP von 312 ± 120 mGy*cm ermittelt.

Für das CTDIvol ergab sich ein ähnliches Bild. Die Kohorte mit Kontrastmittelgabe erhielt eine Strahlendosis in Höhe eines durchschnittlichen CTDIvol von $8,13 \pm 3,09$ mGy (siehe Tabelle 3.5 auf Seite 25). In der Kohorte ohne Kontrastmittel lag die erhaltene Strahlendosis mit einem durchschnittlichen CTDIvol von $9,38 \pm 3,47$ mGy darüber. Insgesamt lag die durchschnittlich erhaltene Strahlendosis bei einem CTDIvol von $8,47 \pm 3,24$ mGy.

Durch den Quotienten aus DLP/CTDIvol ließ sich für jeden Patienten die Länge des untersuchten Volumens ermitteln. Dabei ergab sich mit $37,04 \pm 3,36$ cm bei der Kohorte mit Kontrastmittel und $36,68 \pm 3,75$ cm bei der Kohorte ohne Kontrastmittel kein deutlicher Unterschied zwischen den Kohorten (siehe Tabelle 3.6 auf Seite 26).

Größe	mit KM				ohne KM	
	Ultravist 300		Ultravist 370			
	w	m	w	m	w	m
MW \pm SD	164 \pm 7	175 \pm 6	163 \pm 6	175 \pm 7	164 \pm 7	175 \pm 8
range	[150 \rightarrow 175]	[165 \rightarrow 184]	[146 \rightarrow 173]	[158 \rightarrow 190]	[153 \rightarrow 174]	[151 \rightarrow 191]
n; %	15; 7	34; 15	49; 22	66; 30	16; 7	42; 19
		172 \pm 8		170 \pm 9		
		[150 \rightarrow 184]		[146 \rightarrow 190]		
		49; 30		115; 70		
					172 \pm 9	
					[151 \rightarrow 191]	
					58; 26	
gesamt						
		170 \pm 9		171 \pm 9		
		[146 \rightarrow 190]		[146 \rightarrow 191]		
		164; 74		222; 100		

Tabelle 3.3.:

Durchschnittsgröße der Patienten zum Untersuchungszeitpunkt (in cm, Mittelwert gerundet). Abkürzungen: m = männlich; w = weiblich; MW = Mittelwert; SD = Standardabweichung; n = Anzahl; range = [Minimum \rightarrow Maximum]

Länge	mit KM				ohne KM	
	Ultravist 300		Ultravist 370			
	w	m	w	m	w	m
Geschlecht						
MW \pm SD	33,56 \pm 3,96	35,60 \pm 3,04	36,30 \pm 2,41	39,22 \pm 2,71	34,37 \pm 2,94	37,75 \pm 3,63
range	[28,65 \rightarrow 42,84]	[29,53 \rightarrow 41,37]	[27,47 \rightarrow 41,80]	[32,26 \rightarrow 48,92]	[27,63 \rightarrow 39,07]	[29,00 \rightarrow 44,89]
n; %	16; 7	35; 14	59; 24	69; 28	21; 9	45; 18
		34,96 \pm 3,45		37,87 \pm 2,95		
		[28,65 \rightarrow 42,84]		[27,47 \rightarrow 48,92]		
		51; 28		128; 72		
		37,04 \pm 3,36			36,68 \pm 3,75	
		[27,47 \rightarrow 48,92]			[27,63 \rightarrow 44,89]	
		179; 73			66; 27	
gesamt						
				36,94 \pm 3,47		
				[27,47 \rightarrow 48,92]		
				245; 100		

Tabelle 3.6.:

Länge des Untersuchungsvolumens (Länge in cm, Mittelwert gerundet). Abkürzungen: m = männlich; w = weiblich; MW = Mittelwert; SD = Standardabweichung; n = Anzahl; range = [Minimum \rightarrow Maximum]

3.2. Ergebnisse der mikroskopischen Auswertung

Die Ergebnisse der visuellen Quantifizierung der Lymphozyten und der γ H2AX-Foci mittels Mikroskop sind auf Patientenebene in Tabelle A auf Seite 50 im Anhang dargestellt.

Zusammenfassend sind die Ergebnisse der mikroskopischen Auswertung durch eine deskriptive Statistik in Tabelle 3.7 auf Seite 28 beschrieben. Hierzu wurde ausgehend von den γ H2AX-Foci pro Lymphozyt das arithmetische Mittel, die Standardabweichung und der Standardfehler des Mittelwertes sowohl zu den beiden Zeitpunkten (vor CT und nach CT) als auch der Differenz (nach CT - vor CT) berechnet.

Neben der Röntgenstrahlung gibt es auch andere exogene Faktoren, die eine schädigende Wirkung auf die DNA haben und zu Doppelstrangbrüchen führen können. Es ist also davon auszugehen, dass Patienten auch schon vor der computertomographischen Untersuchung ein positives γ H2AX-Foci-Level hatten. Daher wurden bei dieser Arbeit nicht die absoluten Werte der γ H2AX-Foci-Level vor und nach der Untersuchung sondern der durchschnittliche Zuwachs der γ H2AX-Foci-Level (Differenz nach CT - vor CT) in den beiden Kohorten verglichen.

Da sich die beiden Kohorten hinsichtlich der erhaltenen Strahlendosis sowohl beim DLP als auch beim CTDIvol unterschieden haben (siehe Kapitel 3.1), wurde zusätzlich für jeden Patienten das γ H2AX-Foci-Level nach CT für ein angenommenes Dosisniveau in Höhe eines DLP von 312 mGy*cm ermittelt. Dies konnte einfach über einen Dreisatz (Foci nach CT*312/DLP) berechnet werden, da sich die Anzahl der γ H2AX-Foci proportional zur Bestrahlungsdosis verhält (Löbrich u. a. 2005; Redon u. a. 2010). Es wurde ein DLP von 312 mGy*cm gewählt, da dies der Mittelwert aus beiden Kohorten war (siehe Tabelle 3.4 auf Seite 24).

Das durchschnittliche γ H2AX-Foci-Level der Kohorte mit Kontrastmittel lag vor CT mit $0,071418 \pm 0,117074$ Foci/Zelle (MW \pm SD) auf dem gleichen Niveau wie bei der Kohorte ohne Kontrastmittel (siehe Abbildung 3.1 auf Seite 29 und Tabelle 3.7 auf Seite 28), bei der durchschnittlich $0,072638 \pm 0,123128$ Foci/Zelle vor der CT-Untersuchung nachgewiesen werden konnten. Nach der CT-Untersuchung unterschieden sich die Kohorten jedoch deutlich in ihren durchschnittlichen γ H2AX-Foci-Leveln. Die Kohorte mit Kontrastmittel hatte mit

$0,127635 \pm 0,157622$ Foci/Zelle ein um 28 % höheres γ H2AX-Foci-Level als die Kohorte ohne Kontrastmittel mit $0,099509 \pm 0,128104$ Foci/Zelle. Beim Vergleich der auf ein angenommenes DLP von 312 mGy*cm normierten Werte stellte sich dieser Mittelwertsunterschied noch ausgeprägter dar. Mit Kontrastmittel hatten hier die Patienten durchschnittlich $0,148579 \pm 0,202075$ Foci/Zelle nach CT und damit 59 % mehr Foci/Zelle als die Patienten der kontrastmittelfreien Kohorte, deren γ H2AX-Foci-Level $0,093457 \pm 0,119896$ Foci/Zelle betrug. Dagegen war der Unterschied zwischen den Kontrastmitteln mit

	MW	N	SD	SEM
Kohorte ohne KM				
F/Z vor CT	0,072638	66	0,123128	0,015156
F/Z nach CT	0,099509	66	0,128104	0,015768
F/Z nach CT (DLP 312)	0,093457	66	0,119896	0,014758
F/Z Diff.	0,026871	66	0,112648	0,013866
F/Z Diff. (DLP 312)	0,020819	66	0,108274	0,013328
Kohorte mit KM				
F/Z vor CT	0,071418	179	0,117074	0,008751
F/Z nach CT	0,127635	179	0,157622	0,011781
F/Z nach CT (DLP 312)	0,148579	179	0,202075	0,015104
F/Z Diff.	0,056217	179	0,121436	0,009077
F/Z Diff. (DLP 312)	0,077161	179	0,159514	0,011923
Ultravist 300				
F/Z vor CT	0,073776	51	0,158697	0,022222
F/Z nach CT	0,134965	51	0,198427	0,027785
F/Z Diff.	0,061189	51	0,121931	0,017075
Ultravist 370				
F/Z vor CT	0,070479	128	0,096396	0,008518
F/Z nach CT	0,124715	128	0,138890	0,012276
F/Z Diff.	0,054236	128	0,121661	0,010753

Tabelle 3.7.:

Deskriptive Statistik. Abkürzungen: MW = Mittelwert; N = Anzahl; SD = Standardabweichung; SEM = Standardfehler des Mittelwertes; F/Z = Foci/Zelle; DLP 312 = angenommene Dosis in Höhe eines DLP von 312 mGy*cm; Diff. = Differenz nach CT - vor CT

$0,134965 \pm 0,198427$ Foci/Zelle bei Ultravist 300 zu $0,124715 \pm 0,138890$ Foci/Zelle bei Ultravist 370 eher gering.

Der durchschnittliche Zuwachs des γ H2AX-Foci-Levels in der Kohorte mit Kontrastmittelapplikation insgesamt war mit $0,056217 \pm 0,121436$ Foci/Zelle mehr als doppelt so groß wie der Zuwachs in der Kohorte ohne Kontrastmittel, der bei durchschnittlich $0,026871 \pm 0,112648$ Foci/Zelle lag (siehe Abbildung 3.1 auf Seite 29 und Tabelle 3.7 auf Seite 28). Auch hier war der Unterschied beim Betrachten der auf ein DLP von 312 mGy*cm normierten Werte noch stärker ausgeprägt. Der Zuwachs in der Kohorte mit Kontrastmittel war hier mit $0,077161 \pm 0,159514$ Foci/Zelle mehr als dreimal so hoch wie der in der Kohorte ohne Kontrastmittel mit $0,020819 \pm 0,108274$ Foci/Zelle. Innerhalb der Kohorte mit Kontrastmittelapplikation unterschieden sich die Gruppen mit Ultravist 300 ($0,061189 \pm 0,121931$ Foci/Zelle) und Ultravist 370 ($0,054236 \pm 0,121661$ Foci/Zelle) auch in ihrem durchschnittlichen Zuwachs des γ H2AX-Foci-Levels nur gering.

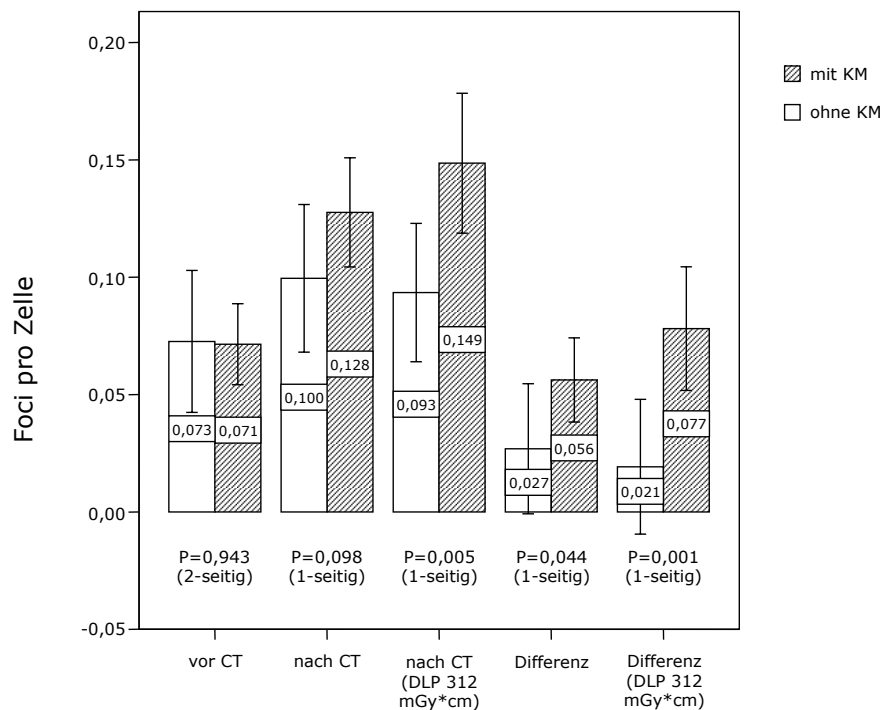


Abbildung 3.1.:

Durchschnittliche Foci pro Zelle (mit Fehlerbalken für 95 % Konfidenzintervall)

Für alle Werte ließ sich eine relativ hohe Standardabweichung und ein geringer Standardfehler des Mittelwertes festhalten, wobei dieser auf die hohe

Fallzahl zurückzuführen war.

3.3. Schließende Statistik

Sowohl für den Vergleich der Mittelwerte zwischen den Kohorten zu den verschiedenen Untersuchungszeitpunkten als auch innerhalb der Kohorten zwischen den Untersuchungszeitpunkten, sowie für deren Differenz wurde eine schließende Statistik mittels t-Test berechnet. Ebenso wurden die Untersuchungsparameter, wie DLP, CTDIvol und die Länge des Untersuchungsvolumens mit einem t-Test für unabhängige Stichproben verglichen. Es wurde in allen Fällen das Signifikanzniveau auf $\alpha=0,05$ festgelegt und ein Konfidenzintervall von 95 % angenommen. Zur Durchführung der statistischen Berechnungen wurde PASW Statistics 18 (IBM SPSS) und für die Datenorganisation MS Access 2007 und MS Excel 2007 verwendet. Da PASW Statistics 18 (IBM SPSS) den t-Test immer zweiseitig testet, also von ungerichteten Hypothesen ausgeht, muss der p-Wert halbiert werden, wenn man selbst eine gerichtete Hypothese annimmt.

3.3.1. Vergleich der Untersuchungsparameter zwischen den Kohorten

Zum Vergleich der Untersuchungsparameter wurde ein t-Test für unabhängige Stichproben durchgeführt. Da hier von ungerichteten Hypothesen auszugehen war, wurde das 2-seitige Testergebnis verwendet. Als Voraussetzung neben der Unabhängigkeit der Stichproben ist auch ihre Varianzhomogenität für den Test erforderlich. Diese wurde mittels Levene-Test der Varianzgleichheit, welcher in SPSS im Rahmen des t-Tests bei unabhängigen Stichproben mit berechnet wird, geprüft.

	F	Signifikanz
DLP	0,347	0,557
CTDIvol	1,431	0,233
Länge des Untersuchungsvolumens	1,819	0,179

Tabelle 3.8.: Levene-Test der Varianzgleichheit für die Untersuchungsparameter

Für alle drei Untersuchungsparameter war der Levene-Test bei einem Signifikanzniveau von $\alpha=0,05$ nicht signifikant (siehe Tabelle 3.8 auf Seite 30). So war in allen drei Fällen von Varianzhomogenität auszugehen.

	T	df	Sig. (2-seitig)	MD	SED	95 % CI	
						untere	obere
DLP	-2,395	243	0,017	-40,96	17,10	-74,64	-7,27
CTDIvol	-2,721	243	0,007	-1,25	0,46	-2,16	-0,35
Länge	1,127	243	0,261	0,56	0,50	-0,42	1,54

Tabelle 3.9.:

T-Test bei unabhängigen Stichproben: Vergleich des Mittelwerts der Untersuchungsparameter zwischen den Kohorten (mit und ohne Kontrastmittel).

Abkürzungen: DLP = Dosis-Längen-Produkt in mGy*cm; CTDIvol = pitchkorrigierter Computed Tomography Dose Index in mGy; Länge = Länge des Untersuchungsvolumens in cm; T = T-Wert; df = Freiheitsgrade; Sig. (2-seitig) = zweiseitige Signifikanz (bei gerichteter Alternativhypothese ist der Wert zu halbieren); MD = Mittlere Differenz; SED = Standardfehler der Differenz; CI = Konfidenzintervall

Beim Vergleich des Dosis-Längen-Produktes zwischen den Kohorten (mit und ohne Kontrastmittel) lag die Mittlere Differenz bei 40,96 mGy*cm zugunsten der Kohorte ohne Kontrastmittel (siehe Tabelle 3.9 auf Seite 31). Damit erhielten die Patienten ohne Kontrastmittel im Durchschnitt eine um 14 % höhere Dosis. Dieser Mittelwertsunterschied war mit $p=0,017$ signifikant.

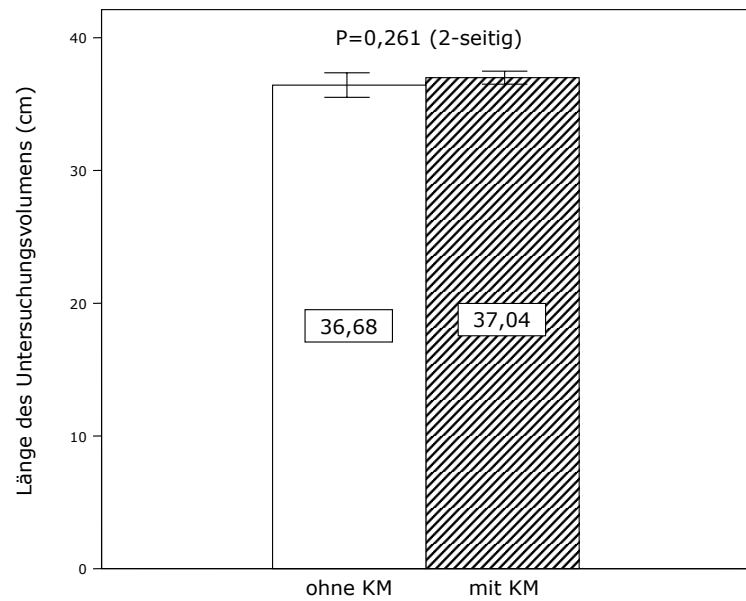


Abbildung 3.2.:

Vergleich der Länge des Untersuchungsvolumens in cm zwischen den Kohorten (mit Fehlerbalken für 95 % Konfidenzintervall)

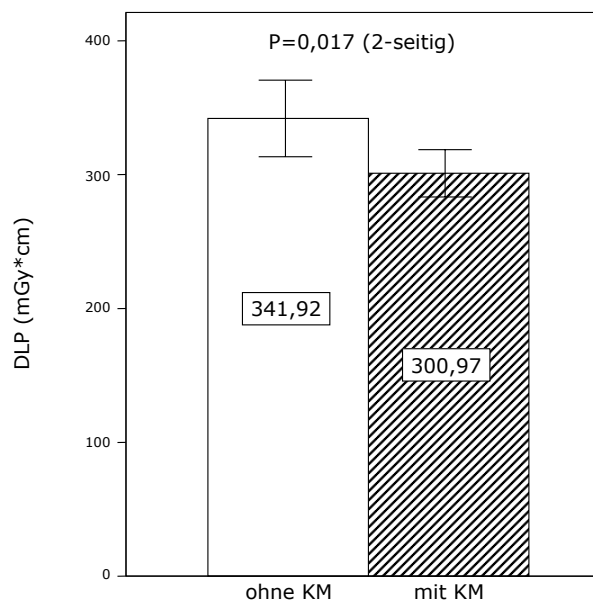


Abbildung 3.3.:

Vergleich des DLP in mGy*cm zwischen den Kohorten (mit Fehlerbalken für 95 % Konfidenzintervall)

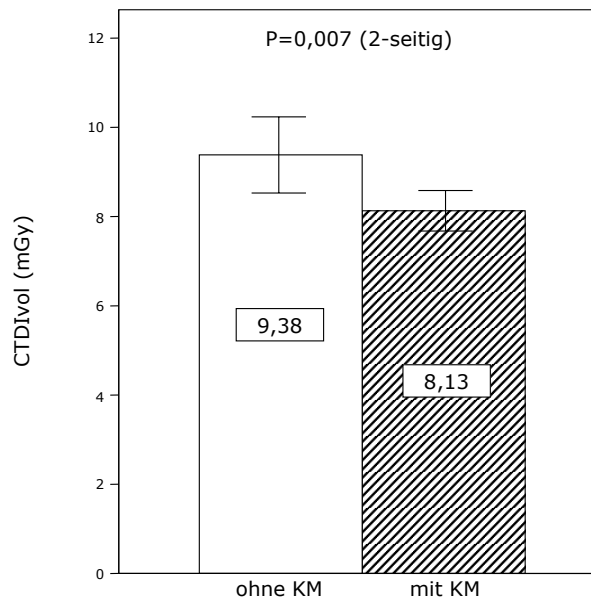


Abbildung 3.4.:

Vergleich des CTDIvol in mGy zwischen den Kohorten (mit Fehlerbalken für 95 % Konfidenzintervall)

Dies spiegelte sich auch beim CTDIvol wieder. Hier lag der CTDIvol bei der Kohorte ohne Kontrastmittel 15 % höher als bei der Kohorte mit Kontrastmittel. Auch dieser Unterschied war mit $p=0,007$ signifikant (siehe Abbildung 3.4 auf Seite 33).

Kein Unterschied ließ sich jedoch bei der Länge des Untersuchungsvolumens zwischen den Kohorten feststellen. Die geringe Mittlere Differenz von 0,56 cm war mit $p=0,261$ nicht signifikant.

3.3.2. Vergleich der Ergebnisse zwischen den Kohorten

Die durchschnittlichen γ H2AX-Foci pro Zelle für die Patienten mit Kontrastmittelgabe wurden mit denen der Patienten ohne Kontrastmittelgabe sowohl zum Zeitpunkt vor als auch nach der computertomographischen Untersuchung miteinander verglichen. Weiterhin wurde für jeden Patienten die Differenz zwischen den γ H2AX-Foci pro Zelle nach und vor der Untersuchung gebildet. Der Mittelwert dieser Differenz wurde ebenfalls verglichen. Aufgrund des schon angesprochenen signifikanten Unterschieds bei der Dosis zwischen den Kohorten wurde sowohl für den Zeitpunkt nach der computertomographischen Untersuchung als auch für die Differenz zwischen den beiden Zeitpunkten zusätzlich

eine schließende Statistik für das auf ein DLP von 312 mGy*cm normierte Foci-Level durchgeführt. Alle diese Mittelwertsvergleiche wurden mittels t-Test bei unabhängigen Stichproben durchgeführt.

	F	Signifikanz
vor CT	0,241	0,624
nach CT	2,035	0,155
nach CT*	8,211	0,005
Differenz (vor CT - nach CT)	1,805	0,180
Differenz (vor CT - nach CT)*	9,412	0,002

Tabelle 3.10.:

Levene-Test der Varianzgleichheit für die Ergebnisse der mikroskopischen Auswertung. *bei einem auf ein DLP von 312 mGy*cm normierten Foci-Level

Das Ergebnis des Levene-Tests zeigte bei einem Signifikanzniveau von $\alpha=0,05$ einen nicht signifikanten F-Wert für die zwei Zeitpunkte und deren Differenz (siehe Tabelle 3.10 auf Seite 34). Daher war sowohl beim Vergleich der Mittelwerte vor und nach CT als auch beim Vergleich der durchschnittlichen Differenz von Varianzhomogenität auszugehen. Im Gegensatz dazu war der Levene-Test für die Werte des auf ein DLP von 312 mGy*cm normierten Foci-Level signifikant. Damit lag hier eine Inhomogenität der Varianzen vor.

	T	df	Sig. (2-seitig)	MD	SED	95 % CI	
						untere	obere
v. CT	-0,071	243	0,943	-0,001220	0,017097	-0,034897	0,032458
n. CT	1,300	243	0,195	0,028126	0,021644	-0,014507	0,070760
n. CT*	2,610	195	0,010	0,000177	0,000068	0,000043	0,000310
Diff.	1,710	243	0,088	0,029346	0,017158	-0,004452	0,063144
Diff.*	3,151	171	0,002	0,056342	0,017882	0,021043	0,091640

Tabelle 3.11.:

T-Test bei unabhängigen Stichproben: Vergleich des Mittelwerts der Foci pro Zelle zwischen den Kohorten (mit und ohne Kontrastmittel). Abkürzungen: v. CT = vor CT; n. CT = nach CT; Diff. = Differenz (nach CT - vor CT); T = T-Wert; df = Freiheitsgrade; Sig. (2-seitig) = zweiseitige Signifikanz (bei gerichteter Alternativhypothese ist der Wert zu halbieren); MD = Mittlere Differenz; SED = Standardfehler der Differenz; CI = Konfidenzintervall; *bei einem auf ein DLP von 312 mGy*cm normierten Foci-Level

Betrachtete man das γ H2AX-Foci-Level vor der CT-Untersuchung, so lag der durchschnittliche Unterschied zwischen den Kohorten bei $-0,001220 \pm 0,017097$ Foci/Zelle (MD \pm SED) ausgehend von der Kohorte mit Kontrastmittelapplikation. In diesem Fall war von einer ungerichteten Alternativhypothese auszugehen, da es keinen Hinweis für Richtung des Unterschiedes zwischen den beiden Kohorten vor der Untersuchung gab. So war der p-Wert der zweiseitigen Testung anzunehmen, der hier für den Zeitpunkt vor CT mit $p=0,943$ deutlich über dem Signifikanzniveau von $\alpha=0,05$ lag (siehe Tabelle 3.11 auf Seite 34). Der Unterschied zwischen den Kohorten vor der Untersuchung war somit nicht signifikant und zufälliger Natur.

Beim Vergleich der γ H2AX-Foci-Level nach der CT-Untersuchung wurde von einer gerichteten Hypothese ausgegangen, da ein höherer Mittelwert bei der Gruppe mit Kontrastmittelgabe erwartet wurde. Der zweiseitige p-Wert aus PASW Statistics 18 (IBM SPSS) war daher zu halbieren und lag mit $p=0,097$ nur knapp über dem Signifikanzniveau von $\alpha=0,05$. Die Mittlere Differenz von $0,028126 \pm 0,021644$ Foci/Zelle war somit zwar deutlich aber nicht signifikant. Aufgrund des vorgegebenen Signifikanzniveaus war nach der Untersuchung von einem zufälligen Unterschied zwischen den Kohorten auszugehen, wobei die Wahrscheinlichkeit eines systematischen Mittelwertunterschiedes bei 90,3 % lag. Im Gegensatz dazu war bei dem auf ein DLP von 312 mGy*cm normierten Foci-Level der Mittelwertsunterschied mit $p=0,005$ (einseitig) signifikant.

Der Zuwachs an γ H2AX-Foci pro Lymphozyt (γ H2AX-Foci-Level nach CT - γ H2AX-Foci-Level vor CT) lag, wie schon in 3.2 beschrieben, bei $0,056217 \pm 0,121436$ Foci/Zelle (MW \pm SD) für die Kohorte mit Kontrastmittelgabe und bei $0,026871 \pm 0,112648$ Foci/Zelle (MW \pm SD) für die Kohorte ohne Kontrastmittel. Die Mittlere Differenz dieser beiden Werte lag bei $0,029346 \pm 0,017158$ Foci/Zelle (MD \pm SED). Dieser Mittelwertsunterschied war bei gerichteter Hypothese mit $p=0,044$ (halbierter zweiseitiger Wert) signifikant. Es war also von einem systematischen Unterschied zwischen den beiden Kohorten hinsichtlich ihres Zuwachses an γ H2AX-Foci auszugehen. Dieser Unterschied war bei einem auf ein DLP von 312 mGy*cm normierten Foci-Level mit $p=0,001$ (einseitig) deutlicher ausgeprägt.

3.3.3. Vergleich der Ergebnisse innerhalb der Kohorten

Mit dem Vergleich der Ergebnisse nach der CT-Untersuchungen mit den vor der Untersuchung sollte überprüft werden, ob der Anstieg des γ H2AX-Foci-Levels innerhalb der Kohorten auf Zufall basierte oder durch die Strahlenexposition während der Untersuchung begründet werden konnte. Weiterhin konnte auch die Auswahl des t-Testes als geeignetes statistisches Verfahren für diese Arbeit mit überprüft werden. Die Stichproben waren im Gegensatz zum Mittelwertsvergleich in Kapitel 3.3.2 nicht unabhängig, da die zu vergleichenden Messwerte jeweils vom gleichen Individuum zu einem unterschiedlichen Zeitpunkt stammen.

	Anzahl	Korrelation	Signifikanz
ohne KM	66	0,599	0,000
ohne KM*	66	0,603	0,000
mit KM	179	0,645	0,000
mit KM*	179	0,615	0,000

Tabelle 3.12.:

Korrelation bei gepaarten Stichproben. *bei einem auf ein DLP von 312 mGy*cm normierten Foci-Level

Die im Rahmen des t-Testes für gepaarte Stichproben bei SPSS mitberechnete Korrelation zeigte sowohl mit 0,645 bei der Kohorte mit Kontrastmittelgabe (0,615 beim auf 312 mGy*cm normierten Foci-Level) als auch mit 0,599 bei der Kohorte ohne Kontrastmittel (0,603 beim auf 312 mGy*cm normierten Foci-Level) einen linearen Zusammenhang zwischen den Variablen vor CT und nach CT (siehe Tabelle 3.12 auf Seite 36). Dieser lineare Zusammenhang war in allen vier Fällen mit $p=0,000$ signifikant.

Beim Mittelwertsvergleich mittels t-Test für gepaarte Stichproben ergaben sich die gleichen Werte für MW, SD und SEM wie schon in Tabelle 3.7 auf Seite 28 im Kapitel 3.2 dargestellt und beschrieben. Es handelte sich hier in beiden Kohorten wiederum um eine gerichtete Alternativhypothese, da ein Anstieg des Foci-Level nach CT erwartet wurde. So musste der unter Sig. (2-seitig) in Tabelle 3.13 auf Seite 37 angegebene Wert jeweils halbiert werden. Auf diese Weise ergab sich für die Kohorte mit Kontrastmittelgabe sowohl beim gezählten Foci-Level als auch beim auf 312 mGy*cm normierten Foci-Level ein signifikanter

gepaarte Differenzen					
	MW	SD	SEM	95 % Konfidenzintervall	
				untere	obere
ohne KM	0,026871	0,112648	0,013866	0,000821	0,054563
ohne KM*	0,020819	0,108274	0,013328	0,047437	0,005798
mit KM	0,056217	0,121436	0,009077	0,038306	0,074129
mit KM*	0,077161	0,159514	0,011922	0,100689	0,053633

	T	df	Sig. (2-seitig)
ohne KM	1,938	65	0,057
ohne KM*	1,562	65	0,123
mit KM	6,194	178	0,000
mit KM*	6,472	178	0,000

Tabelle 3.13.:

T-Test bei gepaarten Stichproben: Vergleich des Mittelwerts der Foci pro Zelle nach CT mit denen vor CT. Abkürzungen: MW = Mittelwert; SD = Standardabweichung; SEM = Standardfehler des Mittelwertes; T = T-Wert; df = Freiheitsgrade; Sig. (2-seitig) = zweiseitige Signifikanz (bei gerichteter Alternativhypothese ist der Wert zu halbieren); *bei einem auf ein DLP von 312 mGy*cm normierten Foci-Level

Mittelwertsunterschied des γ H2AX-Foci-Levels zwischen den Untersuchungszeitpunkten. Dieser Mittelwertsunterschied war damit nicht zufällig, sondern systematisch. In der Kohorte ohne Kontrastmittel war Mittelwertsunterschied nur beim gezählten Foci-Level signifikant ($p=0,029$). Beim auf $312 \text{ mGy} \cdot \text{cm}$ normierten Foci-Level war der Mittelwertsunterschied in der Kohorte ohne Kontrastmittel mit $p=0,062$ nicht signifikant.

4. Diskussion

4.1. Diskussion des Studienkollektivs und der Methodik

Wie in Kapitel 1.3 schon erwähnt, gibt es neben zahlreichen In-vitro-Studien (Norman u. a. 1978; Matsudaira u. a. 1980; Hadnagy u. a. 1982; Matsubara u. a. 1982; Joubert u. a. 2005; Jost u. a. 2009; Grudzenski u. a. 2009; Pathe u. a. 2011) zu den Auswirkungen, die die Applikation jodhaltiger Kontrastmittel im Rahmen radiologischer Untersuchungen auf die DNA hat, auch einige Untersuchungen am Patienten dazu (Adams u. a. 1978; Cochran u. a. 1980; Stephan, Hadnagy 1981; Matsubara u. a. 1982; Mozdarani, Fadaei 1998; Grudzenski u. a. 2009; Pathe u. a. 2011). Diese In-vivo-Studien wiesen mit 4 (Stephan, Hadnagy 1981) bis 37 Patienten (Grudzenski u. a. 2009) jedoch sehr kleiner Fallzahlen auf. In der vorliegenden Arbeit konnten mit 179 Patienten in der Kohorte mit Kontrastmittelapplikation und 66 Patienten in der Kontrollgruppe eine deutlich höhere Fallzahl erreicht werden.

Um die Patientencharakteristik des Klinikalltages in der radiologischen Diagnostik möglichst genau abzubilden, wurden in dieser Studie die Einschlusskriterien weit gefasst. Alle Patienten, die mit der Indikation zur Computertomographie des Thorax in der Klinik für Strahlendiagnostik angemeldet und über die Studie aufgeklärt waren sowie in die Teilnahme eingewilligt hatten, wurden berücksichtigt. Dies galt, wenn die sehr eng gefassten Ausschlusskriterien nicht zutrafen. Es sollten nur die Patienten ausgeschlossen werden, bei denen durch eine Vorerkrankung oder eine vorausgegangene Untersuchung bzw. Behandlung von einer Vorschädigung der peripheren Lymphozyten zum Zeitpunkt der Untersuchung ausgegangen werden musste.

Bei Alter, Größe, Gewicht und Geschlechtsverteilung gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Kohorten (mit und ohne Kontrastmittelapplikation).

In dieser Arbeit wurde das Auftreten von Doppelstrangbrüchen untersucht, da strahleninduzierte Doppelstrangbrüche eine der bedeutendsten Ursachen für die

Entstehung von Mutationen sind (Ward 1995; Zhang u. a. 2007). In vergleichbaren Arbeiten wurde zumeist das Auftreten von Chromosomenaberrationen (Adams u. a. 1978; Stephan, Hadnagy 1981; Matsubara u. a. 1982; Mozdarani, Fadaei 1998) und Mikrokernen (Cochran u. a. 1980) im Zusammenhang mit einer Kontrastmittelapplikation bei verschiedenen CT-Untersuchungen (Radio-graphien, Angiokardiographien, Urographien und Kopf-CTs) analysiert. Zwei Arbeiten beschäftigten sich ebenfalls mit Doppelstrangbrüchen als Strahlenschaden bei kontrastmittelgestützten CT-Untersuchungen des Thoraxes und des Abdomens (Grudzenski u. a. 2009; Pathe u. a. 2011).

Die γ H2AX-Methode stellt den Goldstandard zur Quantifizierung von Doppelstrangbrüchen dar (Fernandez-Capetillo u. a. 2004; Takahashi, Ohnishi 2005). Durch ihre hohe Sensitivität im in der Strahlendiagnostik verwendeten Niedrigdosisbereich eignet sie sich besonders dazu, DNA-Doppelstrangbrüche nach Strahlenexposition im Rahmen von computertomographischen Untersuchungen zu quantifizieren (Rothkamm u. a. 2007). Dabei entspricht ein γ H2AX-Focus jeweils einem DNA-Doppelstrangbruch (Sedelnikova u. a. 2002) und der Verlust eines γ H2AX-Focus der Reparatur eines DNA-Doppelstrangbruchs (Löbrich u. a. 2005). Auch in klinischen Studien konnten mit Hilfe der γ H2AX-Methode erfolgreich Doppelstrangbrüche bestimmt werden (Löbrich u. a. 2005; Rothkamm u. a. 2007; Geisel u. a. 2008; Grudzenski u. a. 2009; Pathe u. a. 2011).

4.2. Diskussion der Ergebnisse

Neben der vorliegenden Arbeit beschäftigten sich 2 weitere Arbeiten mit Doppelstrangbrüchen als Strahlenschaden bei kontrastmittelgestützten CT-Untersuchungen (Grudzenski u. a. 2009; Pathe u. a. 2011).

In der Studie von Grudzenski u. a. (2009) wurden insgesamt 37 Patienten vor und nach einem Thorax-, bzw. Abdomen-CT untersucht, wobei insgesamt 18 Patienten ein Kontrastmittel (Ultravist 300, Bayer Vital GmbH und Imeron 300/350, Bracco GmbH) erhalten haben. Das DLP in der Arbeit von Grudzenski u. a. (2009) erreichte Werte zwischen 165 mGy*cm und 931 mGy*cm. Aufgrund dieser variablen Dosisverteilung wurde das γ H2AX-Foci-Level nach CT auf ein DLP von 500 mGy*cm umgerechnet, um so eine bessere Vergleichbarkeit der Ergebnisse zu erreichen.

In einer weiteren Studie haben Pathe u. a. (2011) 30 Patienten untersucht, von denen 15 Patienten ein kontrastmittelgestütztes (Ultravist 370 mit 370

mg/ml gebundenem Iod, Bayer Vital GmbH) Abdomen-CT und 15 Patienten ein solches ohne Kontrastmittelapplikation erhielten. Hier kam es in der Gruppe mit Kontrastmittel zu einem durchschnittlichen DLP in Höhe von 392 ± 163 mGy*cm und 336 ± 211 mGy*cm in der Gruppe ohne Kontrastmittel. Damit lag das DLP auf ähnlichem Niveau wie in der vorliegenden Arbeit (siehe Tabelle 3.4 auf Seite 24), wobei bei Pathe u. a. (2011) die Kohorte mit Kontrastmittel das höhere durchschnittliche DLP erhalten hatte und der Unterschied zwischen den Kohorten statistisch nicht signifikant war ($p > 0,05$). Das γ H2AX-Foci-Level bei Pathe u. a. (2011) lag in der Gruppe mit kontrastverstärktem CT mit $0,19 \pm 0,10$ Foci/Zelle 58 % über dem der Gruppe ohne Kontrastmittelapplikation mit $0,12 \pm 0,08$ Foci/Zelle und der Mittelwertsunterschied war mit $p = 0,04$ signifikant.

In der vorliegenden Arbeit unterschieden sich die Kohorten hinsichtlich des erhaltenen DLP nicht so deutlich und es sollten gleiche Voraussetzungen bei der erhaltenen Strahlendosis für beide Kohorten gelten. Das DLP für die Kohorte ohne Kontrastmittel lag mit 342 ± 116 mGy*cm (MW \pm SD) 14 % über dem der Kohorte mit Kontrastmittel mit 301 ± 120 mGy*cm. Auch das CTDIvol war in der Kohorte ohne Kontrastmittel durchschnittlich 15 % höher. Trotz der geringen Differenz war der Unterschied mit $p = 0,017$ beim DLP und $p = 0,007$ beim CTDIvol signifikant. So wäre aufgrund der höheren Dosis in der Kohorte ohne Kontrastmittel ein höheres γ H2AX-Foci-Level nach CT zu erwarten gewesen, da sich die Anzahl der γ H2AX-Foci proportional zur Bestrahlungsdosis verhält (Löbrich u. a. 2005; Redon u. a. 2010). Hier war jedoch das γ H2AX-Foci-Level in der Kohorte mit Kontrastmittel mit $0,13 \pm 0,16$ Foci/Zelle um 28 % höher als in der Kohorte ohne Kontrastmittel mit $0,10 \pm 0,13$ Foci/Zelle (siehe Kapitel 3.2). Dieser Mittelwertsunterschied war mit $p = 0,098$ nicht signifikant. Der Vergleich der Ergebnisse bei einem DLP von 312 mGy*cm sollte analog zur Umrechnung der Ergebnisse auf ein DLP von 500 mGy*cm bei Grudzenski u. a. (2009) die Unterschiede bei der erhaltenen Strahlendosis ausgleichen. Da die Kohorte ohne Kontrastmittel in der vorliegenden Arbeit durchschnittlich eine höhere Dosis erhielt, war der Mittelwertsunterschied beim γ H2AX-Foci-Level hier noch deutlicher ausgeprägt. Das γ H2AX-Foci-Level bei der Kohorte mit Kontrastmittel lag hier mit $0,15 \pm 0,20$ Foci/Zelle über dem der Kohorte ohne Kontrastmittel mit $0,09 \pm 0,12$ Foci/Zelle. Der prozentuale Unterschied zwischen den Kohorten nach CT entsprach mit 59 % fast genau den Ergebnissen aus der Arbeit von Pathe u. a. (2011) mit 58 % und war nun mit $p = 0,005$ signifikant. Grudzenski u. a. (2009) stellte hier in-vivo einen prozentualen Unterschied von 30 % post-

CT zwischen den Gruppen zugunsten der Gruppe mit Kontrastmittel fest.

Da neben der Röntgenstrahlung auch andere exogene Faktoren zu einem erhöhten γ H2AX-Foci-Level führen können, sollten in dieser Arbeit nicht nur die absoluten Werte des γ H2AX-Foci-Levels nach CT untersucht werden, sondern auch der Zuwachs des γ H2AX-Foci-Levels. Hier wurden die Auswirkungen, die das Kontrastmittel auf die Foci-Entstehung hatte, besonders deutlich. Dazu musste auch das γ H2AX-Foci-Level vor CT bestimmt werden. Beide Kohorten hatten prä-CT mit 0,07 Foci/Zelle ein gleich hohes γ H2AX-Foci-Level. Die geringen Unterschiede waren mit $p=0,943$ nicht signifikant. In vergleichbaren Studien lag das dort als „Hintergrundlevel“ bezeichnete γ H2AX-Foci-Level prä-CT bei 0,05 Foci/Zelle (Rothkamm, Löbrich 2003; Pathe u. a. 2011).

Die Kohorte mit Kontrastmittel hatte mit $0,06 \pm 0,12$ Foci/Zelle einen doppelt so hohen Zuwachs an γ H2AX-Foci nach der computertomographischen Untersuchung als die Kohorte ohne Kontrastmittel mit $0,03 \pm 0,11$ Foci/Zelle. Diese Ergebnisse waren mit $p=0,044$ signifikant. Der dosisbereinigte Vergleich bei einem DLP von 312 mGy*cm zeigte sogar einen mehr als dreimal so hohen Zuwachs an γ H2AX-Foci nach CT in der Kohorte mit Kontrastmittel. Auch hier war der Mittelwertsunterschied mit $p=0,001$ signifikant. So konnte die vorliegende Arbeit verdeutlichen, dass die Kontrastmittelapplikation den im Rahmen computertomographischer Untersuchungen entstehenden DNA-Schaden verdoppeln bis verdreifachen kann. Dies deckt sich mit den Ergebnissen anderer In-vivo und In-vitro-Studien. Neben den schon erwähnten Arbeiten von Grudzenski u. a. (2009) und Pathe u. a. (2011) zeigten andere Arbeiten ebenfalls eine Vergrößerung des DNA-Schadens in peripheren Lymphozyten durch Kontrastmittel bei verschiedenen Röntgenuntersuchungen (Adams u. a. 1978; Cochran u. a. 1980; Stephan, Hadnagy 1981; Matsubara u. a. 1982; Mozdarani, Fadaei 1998; Joubert u. a. 2005; Jost u. a. 2009). Adams u. a. (1978) verglichen die Anzahl von Chromosomenaberrationen bei 20 Kindern nach Herzkatheteruntersuchungen und Angiographien mit vergleichbaren Werten aus kontrastmittelfreien Röntgenuntersuchungen mit gleicher Strahlendosis. Dabei stellten sie eine Erhöhung des Strahlenschadens fest, die sie auf das Kontrastmittel zurückführten. In einer weiteren Arbeit stellten Cochran u. a. (1980) bei 26 Patienten nach einer Ausscheidungsurographie mehr Mikrokerne fest als erwartet. Auch hier wurde das Kontrastmittel als Ursache für die Erhöhung des Strahlenschadens angesehen. Für Stephan, Hadnagy (1981) war die von ihnen beobachtete siebenmal höhere Anzahl von Chromosomenaberrationen bei 4 Patienten nach einer kontrastmittelgestützten Röntgenuntersuchung zu groß, um durch die Strahlung

allein induziert worden zu sein. Matsubara u. a. (1982) konnten in ihrer Arbeit zeigen, dass eine Erhöhung der Kontrastmittelkonzentration zu einer Erhöhung der Anzahl von Chromosomenaberrationen führt.

Auf die Reparatur von Doppelstrangbrüchen in peripheren Lymphozyten nach CT-Untersuchungen scheint die Kontrastmittelapplikation jedoch keine Auswirkungen zu haben (Pathe u. a. 2011).

4.3. Kritische Würdigung und Grenzen der Studie

Probleme bei der Quantifizierung von DNA-Doppelstrangbrüchen in peripheren Lymphozyten mittels γ H2AX-Methode können sich aus der Tatsache ergeben, dass bei der computertomographischen Untersuchung des Thorax nur ein Teil der Lymphozyten im Körper im Strahlenfeld liegen. Nach der Untersuchung mischen sich durch die physiologische Blutzirkulation die bestrahlten Lymphozyten in kürzester Zeit mit unbestrahlten Lymphozyten. So entsteht eine Verdünnung des Strahlenschadens und ein geringeres Foci-Level, was zur Unterschätzung der Ergebnisse führt (Geisel u. a. 2008). Trotzdem wurde die γ H2AX-Methode in der Vergangenheit erfolgreich zur Quantifizierung von DNA-Doppelstrangbrüchen auch an peripheren Lymphozyten eingesetzt (Fernandez-Capetillo u. a. 2004; Geisel u. a. 2008; Grudzenski u. a. 2009; Pathe u. a. 2011). In der vorliegenden Arbeit ging es um den Vergleich der Differenz (nach CT - vor CT) des Foci-Level zwischen der Kontrastmittel-Kohorte und der Kontrollgruppe und nicht um die absoluten Werte des Foci-Level nach der Untersuchung. So wirkt sich der angesprochene Verdünnungseffekt auf beiden Kohorten gleichermaßen aus und lässt ein Vergleich der Ergebnisse zu. Weiterhin war der Unterschied bei der Länge des bestrahlten Untersuchungsvolumens zwischen den Kohorten sehr gering und mit einem $p=0,179$ eher zufällig.

Ein weiteres methodisches Problem bei der Quantifizierung der DNA-Doppelstrangbrüche könnte die manuelle Auszählung der Foci darstellen. Die starke Untersucherabhängigkeit und die durch menschliche Fehler bedingten Ungenauigkeiten der manuellen Auswertung könnten als problematisch angesehen werden. In Studien wurden mehrere automatische und halbautomatische Verfahren zur Quantifizierung von γ H2AX-Foci getestet. Diese Verfahren sind der manuellen Auswertung im Hinblick auf Ungenauigkeiten durch Verzählen, Reproduzierbarkeit und je nach Verfahren auch beim zeitlichen Aufwand überlegen

(Böcker, Iliakis 2006; Jucha u. a. 2010; González u. a. 2012). Dennoch erzeugen sie mit der manuellen Auswertung vergleichbare Ergebnisse (Böcker, Iliakis 2006).

Auch ist zu berücksichtigen, dass es sich bei der vorliegenden Arbeit um eine klinische Studie mit weitgefassten Einschlusskriterien handelt, sodass von einem genetisch heterogenen Hintergrund der Patienten ausgegangen werden muss, was wiederum einen starken Einfluss auf die Variabilität der Ergebnisse haben kann.

4.4. Ausblick

In der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass die Applikation von Kontrastmittel im Rahmen computertomographischer Untersuchungen des Thorax zu einem signifikant erhöhten Auftreten von DNA-Doppelstrangbrüchen führen kann. Damit konnten mit größeren Fallzahlen bisherige Ergebnisse aus der Literatur (Grudzenski u. a. 2009; Pathe u. a. 2011) bestätigt werden. Dennoch liegt die Standardabweichung auch in dieser Arbeit noch recht hoch. Daher sollten weitere Folgestudien von größeren Fallzahlen ausgehen.

Um bei noch größeren Fallzahlen die Anzahl an DNA-Doppelstrangbrüchen mit der γ H2AX-Methode möglichst präzise und reproduzierbar bei gleichzeitig überschaubarem Arbeits- und Zeitaufwand zu quantifizieren, wäre ein vollautomatisches, computergestütztes Verfahren zur Auswertung empfehlenswert. Hier gibt die Literatur verschiedene Verfahren und Systeme zur Auswahl (Böcker, Iliakis 2006; Jucha u. a. 2010; González u. a. 2012).

Weiterführende Studien könnten sich auch mit Aspekten verschiedener Röntgenkontrastmittel im Vergleich beschäftigen. Hier fehlen noch Daten auf breiter Patientenbasis mit großen Fallzahlen.

Kontrastmittel können auch ohne Einwirkung ionisierender Strahlung zahlreiche systemische Nebenwirkungen haben. In der Arbeit von Parvez u. a. (1986) konnte gezeigt werden, dass es sogar ohne ionisierende Strahlung zu einer DNA-schädigenden Wirkung kommen kann. Dies konnte aber von Pathe u. a. (2011) für DNA-Doppelstrangbrüchen nicht bestätigt werden. Es ist eher davon auszugehen, dass durch das Kontrastmittel im Rahmen der CT-Untersuchung zusätzliche Sekundärelektronen entstehen. Dies lässt sich auf die stärkere Absorption von Röntgenstrahlen durch jodhaltige Kontrastmittel zurückführen (siehe Kapitel 1.1.3). Die zusätzlichen Sekundärelektronen könnten die DNA-schädigende

Wirkung von Röntgenstrahlen verstärken (Pathe u. a. 2011).

Neben der Vertiefung des Aspektes der gentoxischen Wirkung von Röntgenkontrastmitteln sollten weitere Forschungsanstrengungen auch im Bereich von Kontrastmittel-Alternativen angestrebt werden.

Da die ionisierende Strahlung eine entscheidende Rolle beim „Kontrastmitteleffekt“ spielt, wäre auch die Erweiterung der Indikation von alternativen bildgebenden Verfahren wie die Magnetresonanztomographie zu prüfen.

Um weitere Einflussfaktoren zu erörtern, wäre bei zukünftigen Untersuchungen auch die Berücksichtigung und Analyse zusätzlicher Patientencharakteristiken denkbar.

Letztendlich sollte aufgrund des derzeitigen Kenntnisstandes beim Einsatz von Kontrastmitteln im Rahmen computertomographischer Untersuchungen strikt auf die Einhaltung von Indikation und Dosierung geachtet und mögliche diagnostische Alternativen berücksichtigt werden. Dies gilt ebenso für den verantwortungsvollen Einsatz ionisierender Strahlung in der computertomographischen Diagnostik.

5. Zusammenfassung/Summary

EINLEITUNG Röntgenkontrastmittel eignen sich durch ihre stärkere Absorption von Röntgenstrahlung dazu, Gefäße, die sich hinsichtlich ihrer Dichte meist kaum von ihrer Umgebung unterscheiden, kontrastreicher und damit abgrenzbarer gegenüber den umliegenden Strukturen darzustellen. So werden Röntgenkontrastmittel schon länger indikationsabhängig in der Computertomographie eingesetzt. Nun konnte in präklinischen Studien klinisch gezeigt werden, dass die Applikation jodhaltiger Röntgenkontrastmittel in der radiologischen Diagnostik, neben bereits bekannten systemischen Nebenwirkungen, wie der Kontrastmittelinduzierten Nephropathie (contrast induced nephropathy, CIN) als bedeutendste systemische Nebenwirkung, gerade in Kombination mit ionisierender Strahlung auch zu einer verstärkten Schädigung der DNA führen kann. Diese strahleninduzierten DNA-Schäden konnten in Form von Mikrokernen, Chromosomenaberrationen und DNA-Doppelstrangbrüchen nachgewiesen werden, wobei Doppelstrangbrüche eine der bedeutendsten Ursachen für die Entstehung von Mutationen darstellen. Ihre Reparatur ist für die Zelle schwieriger als die anderer DNA-Schäden, und wird ein Doppelstrangbruch nicht oder fehlerhaft repariert, kann dies zur Karzinogenese führen. Mit der γ H2AX-Methode lassen sich DNA-Doppelstrangbrüche quantifizieren, wobei ein γ H2AX-Focus jeweils einem DNA-Doppelstrangbruch entspricht. Aufgrund kleinerer Fallzahlen in früheren Studien sollte nun mit der vorliegenden Arbeit statistische Sicherheit bei der Frage gewonnen werden, inwieweit die Applikation von jodhaltigem Kontrastmittel im Rahmen computertomographischer Thorax-Untersuchungen einen quantitativen Einfluss auf das Auftreten von DNA-Doppelstrangbrüchen in vivo hat. **MATERIAL** Das Blut von 179 Patienten mit Indikation für ein Kontrastmittelgestütztes Thorax-CT (Kohorte mit Kontrastmittel) und von 66 Patienten ohne Kontrastmittelapplikation (Kohorte ohne Kontrastmittel) wurde jeweils vor und nach der computertomographischen Untersuchung analysiert. Es gab keine signifikanten Unterschiede bei Alter, Größe, Gewicht und Geschlechterverteilung zwischen den beiden Kohorten. Aus den Blutproben wurden die Lymphozyten separiert und anschließend die DNA-Doppelstrangbrüche über die γ H2AX-Methode mittels Immunfluoreszenzmikroskopie sichtbar gemacht

und quantifiziert. **ERGEBNISSE** Der durchschnittliche Zuwachs an γ H2AX-Foci nach der CT-Untersuchung war in der Kohorte mit Kontrastmittelapplikation mit $0,056 \pm 0,121$ Foci/Zelle (Mittelwert \pm Standardabweichung) mehr als doppelt so groß wie der Zuwachs in der Kohorte ohne Kontrastmittel, der bei durchschnittlich $0,027 \pm 0,113$ Foci/Zelle lag. In einer schließenden Statistik mittels unabhängigem t-Test war dieser Unterschied der Mittelwerte bei gerichteter Hypothese mit $p=0,044$ signifikant. Da sich die beiden Kohorten (mit und ohne Kontrastmittel) hinsichtlich der erhaltenen Strahlendosis geringfügig unterschieden, wurde zusätzlich für jeden Patienten das γ H2AX-Foci-Level nach CT für ein angenommenes Dosisniveau in Höhe eines Dosis-Längen-Produktes (DLP) von $312 \text{ mGy} \cdot \text{cm}$ ermittelt. Es wurde ein DLP von $312 \text{ mGy} \cdot \text{cm}$ gewählt, da dies der Mittelwert aus beiden Kohorten war. Hier war der Zuwachs an γ H2AX-Foci mit $0,077 \pm 0,160$ Foci/Zelle in der Kohorte mit Kontrastmittel mehr als dreimal so hoch wie der in der Kohorte ohne Kontrastmittel mit $0,021 \pm 0,108$ Foci/Zelle. **DISKUSSION** Diese Arbeit konnte zeigen, dass die Applikation von jodhaltigem Kontrastmittel im Rahmen von Thorax-CT-Untersuchungen zu einem signifikant höheren Zuwachs von γ H2AX-Foci führen kann. Da bei der γ H2AX-Methode jeder Focus einem DNA-Doppelstrangbruch entspricht, lässt sich daraus ein erhöhtes Auftreten von Doppelstrangbrüchen durch die Kontrastmittelapplikation ableiten. Dies lässt sich möglicherweise auf die zusätzlich entstehenden Sekundärelektronen zurückführen. Diese entstehen aufgrund der stärkeren Absorption von Röntgenstrahlen durch jodhaltige Kontrastmittel und könnten die DNA-schädigende Wirkung von Röntgenstrahlen verstärken. Probleme bei der Risikobewertung können sich aus der Tatsache ergeben, dass während der CT-Untersuchung nur ein Teil der Lymphozyten im Strahlenfeld liegen. Nach der Untersuchung mischen sich durch die physiologische Blutzirkulation die bestrahlten in kürzester Zeit mit unbestrahlten Lymphozyten. So entsteht eine Verdünnung des Strahlenschadens und ein geringeres Foci-Level, was zur Unterschätzung der Ergebnisse führt. Trotzdem wurde die γ H2AX-Methode in der Vergangenheit erfolgreich zur Quantifizierung von DNA-Doppelstrangbrüchen auch an peripheren Lymphozyten eingesetzt, was auch die vorliegende Arbeit bestätigen konnte. Letztendlich sollte aufgrund des derzeitigen Kenntnisstandes beim Einsatz von jodhaltigen Röntgenkontrastmitteln mehr als zuvor auf die strikte Einhaltung von Indikation und Dosierung geachtet und mögliche diagnostische Alternativen berücksichtigt werden.

INTRODUCTION X-ray iodinated contrast agents have a higher absorption of x-rays than soft tissue. Thus, they are suitable for a high contrast reproduction of vessels, whose density does not usually differ from the surrounding tissue. The indication-dependent use of X-ray contrast agents in computed tomography is state of the art. Nephro- and cytotoxic effects of these contrast agents, like contrast-induced nephropathy (CIN) as the most significant, are well known. Exposure to x-rays leads to an increased risk of developing cancer due to excessive DNA damage. Preliminary clinical studies indicate that the application of X-ray contrast agents increases this DNA damage during a CT examination. The proven radiation-induced DNA damages include micronuclei, chromosomal aberrations, and double-strand breaks. Double-strand breaks are the most significant cause for carcinogenesis. Their repair is more difficult than other DNA damage, and a failure of their repair can lead to cancer. DNA double-strand breaks can be visualised and quantified by assessing γ H2AX-foci. With this method every γ H2AX-focus equates to exactly one DNA double-strand break. Because of the small number of cases in earlier studies, this study should give more statistical certainty with the following question: To what extent does the application of iodinated X-ray contrast agents have a quantitative influence on the incidence of DNA double-strand breaks in patients undergoing diagnostic chest CT examinations?

MATERIAL Blood samples of 179 patients with a clinical indication for a contrast enhanced CT (cohort with contrast agent) and 66 patients with a clinical indication for an unenhanced CT (cohort without contrast agent) were analyzed prior and immediately after the CT examination. Age, size, weight, and gender did not differ significantly between both cohorts. Peripheral lymphocytes were separated from the blood samples. DNA double-strand breaks were visualised and enumerated by assessing γ H2AX-foci with immune fluorescence microscopy.

RESULTS The average increase of γ H2AX-foci per lymphocyte after the CT examination of the contrast-enhanced cohort was 0.056 ± 0.121 foci/cell (mean \pm standard deviation), twice as much as the increase in the unenhanced cohort with 0.027 ± 0.113 foci/cell. In an inferential statistic using independent t-test with directional hypothesis (one-tailed test) and $\alpha < 0.05$ this difference of means was statistically significant with $p=0.044$. Differences in radiation dose parameters were not statistically significant between cohorts with the exception of the dose-length product (DLP: unenhanced: 342 ± 116 mGy*cm; contrast enhanced: 301 ± 120 mGy*cm; $p < 0.05$). Mean DLP was 312 ± 120 mGy*cm for the entire patient cohort. In order to compensate for this difference in radiation dose between the two cohorts, the DNA

damage was standardized to a mean radiation dose of 312 mGy*cm. This resulted in an even greater difference in the increase of foci/cell after CT scanning. The group undergoing unenhanced CT showed an increase of 0.021 ± 0.108 foci/cell, while the contrast-enhanced group exhibited 0.077 ± 0.160 foci/cell. This increase was 267 % higher for the contrast-enhanced group. The difference was statistically significant ($p=0.001$).

DISCUSSION The present study showed that the presence of iodinated contrast agents during irradiation significantly increases the number of induced γ H2AX-foci. This is most likely an effect which is caused by the generation of additional secondary electrons when the x-rays are absorbed by the contrast agent. Due to their high density, iodinated contrast agents absorb more x-rays than human soft tissues. In addition, the generation of secondary electrons is strongly dependent on the density of the absorbing material. Therefore, these effects are synergistic, and the generation of secondary electrons is even more pronounced. These secondary electrons are the major cause of DNA damage induced by x-rays. Problems with the assessment of risk can result from the fact that the lymphocytes are irradiated only partially during the CT examination. Because of the physiological blood circulation, the irradiated lymphocytes mix with non-irradiated lymphocytes after the CT examination. This effect leads to a dilution of the radiation damage and a lower foci level. Therefore, the assessment of risk can be underestimated. However, this study, just as studies in the recent past, could show that the analysis of γ H2AX-foci in peripheral lymphocytes represents a useful approach to measure the induction of double-strand breaks after irradiation with diagnostic radiation doses. Finally, the indication and the dosing of iodinated x-ray contrast agents has to be assessed even more carefully, and alternative diagnostic procedures should be considered.

A. Anhang

Ergebnisse der mikroskopischen Auswertung auf Patientenbasis

Tabelle A.1.:

Ergebnisse der mikroskopischen Auswertung. Abkürzungen: Geschl. = Geschlecht; Gew. = Gewicht; F/Z = Foci pro Zelle; v. CT bzw. n. CT = vor bzw. nach der computertomographischen Untersuchung; KM = Kontrastmittel; RS = Röhrenstrom; m bzw. w = männlich bzw. weiblich; k.A. = keine Angabe; Uv 300 bzw. 370 = Ultravist 300 bzw. 370.

Patient (Nr)	Geschl.	Alter (J)	Größe (cm)	Gew. (kg)	F/Z (v. CT)	F/Z (n. CT)	KM	Menge (ml)	RS (mAs)	Total DLP (mGy*cm)	CTDIvol (mGy)
1	w	62	k.A.	k.A.	0,000	0,132	Uv 370	50	2324	412	10,99
2	w	59	158	91	0,378	0,328	Uv 300	50	2413	436	14,35
3	w	88	k.A.	k.A.	0,192	0,100	nein	0	3459	365	11,18
4	w	52	160	54	0,000	0,111	nein	0	4472	478	14,33
5	m	83	160	72	0,180	0,122	nein	0	2466	440	11,07
6	w	45	160	84	0,231	0,116	Uv 370	50	2250	404	11,37
7	w	78	163	64	0,142	0,177	Uv 370	50	1277	216	6,09
8	m	81	167	77	0,000	0,160	Uv 370	50	2244	396	10,19
9	m	73	151	73	0,198	0,121	nein	0	2739	295	8,29
10	w	31	162	56	0,181	0,112	Uv 370	50	1040	169	4,43
11	m	71	175	74	0,000	0,000	Uv 370	50	1842	321	8,73
12	m	54	175	k.A.	0,000	0,216	Uv 370	50	1206	207	5,48
13	w	59	163	54	0,000	0,000	Uv 370	50	1291	214	5,76

Fortsetzung auf der nächsten Seite

Tabelle A.1.: Ergebnisse der mikroskopischen Auswertung - Fortsetzung

Patient (Nr)	Geschl.	Alter (J)	Größe (cm)	Gew. (kg)	F/Z (v. CT)	F/Z (n. CT)	KM	Menge (ml)	RS (mAs)	Total DLP (mGy*cm)	CTDIvol (mGy)
14	m	88	170	65	0,000	0,000	Uv 370	50	1835	317	7,38
15	w	64	167	61	0,000	0,000	Uv 300	50	2588	228	6,84
16	w	80	165	82	0,239	0,331	Uv 370	50	2015	359	10,11
17	w	69	168	85	0,000	0,000	Uv 370	50	2358	413	10,49
18	m	60	170	65	0,000	0,000	Uv 370	60	1376	227	5,34
19	m	72	168	92	0,000	0,175	nein	0	3322	346	11,93
20	m	64	168	55	0,000	0,137	Uv 370	60	1232	207	5,40
21	w	75	146	55	0,000	0,000	Uv 370	50	1415	240	6,55
22	m	73	168	72	0,085	0,158	Uv 300	60	3051	259	6,84
23	w	63	169	80	0,000	0,477	Uv 300	60	2641	214	6,84
24	w	48	153	59	0,065	0,184	Uv 370	50	1429	243	6,36
25	m	72	175	72	0,000	0,000	Uv 300	60	2910	242	6,84
26	w	41	174	75	0,000	0,000	nein	0	1436	243	6,22
27	m	71	172	91	0,076	0,068	Uv 370	50	2067	367	9,17
28	m	78	175	106	0,118	0,095	nein	0	2339	420	11,40
29	m	37	176	83	0,154	0,142	Uv 370	50	2301	408	9,64
30	m	72	179	80	0,000	0,000	Uv 300	60	2961	258	6,84

Fortsetzung auf der nächsten Seite

Tabelle A.1.: Ergebnisse der mikroskopischen Auswertung - Fortsetzung

Patient (Nr)	Geschl.	Alter (J)	Größe (cm)	Gew. (kg)	F/Z (v. CT)	F/Z (n. CT)	KM	Menge (ml)	RS (mAs)	Total DLP (mGy*cm)	CTDIvol (mGy)
31	m	45	186	98	0,000	0,000	nein	0	2709	233	6,84
32	m	76	165	75	0,000	0,000	Uv 300	120	4883	212	6,84
33	w	68	167	72	0,000	0,000	Uv 370	50	1497	257	6,42
34	m	64	168	56	0,123	0,096	Uv 300	60	1232	207	5,40
35	m	68	178	63	0,000	0,000	Uv 370	50	1713	297	7,19
36	w	42	166	58	0,236	0,204	Uv 370	50	1413	241	6,33
37	m	23	185	80	0,239	0,363	nein	0	1659	286	6,80
38	m	73	178	90	0,160	0,041	Uv 370	50	2002	354	9,25
39	m	59	176	77	0,294	0,260	Uv 370	50	1867	325	8,23
40	m	62	173	70	0,000	0,018	Uv 370	50	1776	306	7,19
41	m	68	182	80	0,113	0,402	Uv 300	60	3162	270	6,84
42	w	36	168	65	0,000	0,197	Uv 300	60	3190	272	6,84
43	w	55	173	134	0,000	0,224	nein	0	4913	779	27,25
44	w	71	158	80	0,000	0,000	Uv 370	50	1833	318	8,35
45	w	85	173	100	0,531	0,489	nein	0	2627	479	14,27
46	w	77	171	60	0,127	0,513	Uv 370	50	1458	252	6,91
47	m	49	185	85	0,000	0,000	Uv 370	60	3225	273	6,84

Fortsetzung auf der nächsten Seite

Tabelle A.1.: Ergebnisse der mikroskopischen Auswertung - Fortsetzung

Patient (Nr)	Geschl.	Alter (J)	Größe (cm)	Gew. (kg)	F/Z (v. CT)	F/Z (n. CT)	KM	Menge (ml)	RS (mAs)	Total DLP (mGy*cm)	CTDIvol (mGy)
48	m	78	173	91	0,000	0,086	nein	0	2723	486	11,29
49	m	70	177	74	0,000	0,174	Uv 370	50	1609	278	7,27
50	w	72	164	80	0,000	0,000	Uv 370	50	2051	362	10,25
51	m	69	174	73	0,000	0,000	nein	0	1797	315	8,04
52	m	74	179	90	0,157	0,212	nein	0	3230	373	9,34
53	w	61	165	70	0,411	0,155	nein	0	2635	218	6,84
54	m	55	182	98	0,000	0,000	nein	0	2700	482	11,87
55	m	65	178	116	0,000	0,155	nein	0	2428	435	12,53
56	w	45	173	75	0,000	0,189	Uv 370	50	1576	268	6,91
57	m	65	176	68	0,062	0,000	Uv 300	60	3056	257	6,84
58	m	47	167	80	0,085	0,069	nein	0	2987	257	6,84
59	w	59	158	92	0,364	0,328	Uv 300	60	2968	257	6,84
60	w	83	163	63	0,162	0,139	Uv 370	50	1433	248	7,13
61	m	59	158	74	0,393	0,509	Uv 370	50	1292	221	6,06
62	m	56	183	73	0,000	0,000	Uv 300	60	3026	257	6,84
63	w	51	168	102	0,000	0,210	Uv 370	50	2534	453	12,56
64	m	54	170	64	0,000	0,000	Uv 370	50	1525	254	6,09

Fortsetzung auf der nächsten Seite

Tabelle A.1.: Ergebnisse der mikroskopischen Auswertung - Fortsetzung

Patient (Nr)	Geschl.	Alter (J)	Größe (cm)	Gew. (kg)	F/Z (v. CT)	F/Z (n. CT)	KM	Menge (ml)	RS (mAs)	Total DLP (mGy*cm)	CTDIvol (mGy)
65	w	55	157	76	0,277	0,262	Uv 370	50	1730	311	11,32
66	m	57	185	63	0,000	0,176	Uv 370	50	1206	201	4,85
67	m	66	173	80	0,000	0,000	nein	0	2239	238	6,67
68	w	65	160	60	0,247	0,156	Uv 370	50	1209	204	5,56
69	m	48	183	71	0,122	0,219	Uv 370	50	1508	259	6,55
70	m	82	164	86	0,122	0,048	nein	0	2687	225	6,84
71	m	63	181	82	0,000	0,119	Uv 300	60	2842	237	6,84
72	m	67	170	97	0,873	1,068	Uv 300	60	2882	233	6,84
73	m	74	172	88	0,395	0,828	Uv 370	50	2233	393	10,25
74	m	44	190	110	0,043	0,524	Uv 370	50	2579	461	11,73
75	m	69	168	72	0,126	0,097	Uv 370	50	1649	286	8,01
76	w	75	165	89	0,000	0,110	Uv 370	50	1859	334	11,21
77	w	61	159	64	0,134	0,298	Uv 370	50	1742	304	8,21
78	m	67	186	80	0,068	0,205	Uv 370	50	1762	301	7,16
79	m	76	174	105	0,000	0,000	nein	0	2892	516	12,75
80	w	70	168	68	0,000	0,000	nein	0	1286	217	6,11
81	w	61	156	48	0,000	0,000	Uv 300	60	2863	233	6,84

Fortsetzung auf der nächsten Seite

Tabelle A.1.: Ergebnisse der mikroskopischen Auswertung - Fortsetzung

Patient (Nr)	Geschl.	Alter (J)	Größe (cm)	Gew. (kg)	F/Z (v. CT)	F/Z (n. CT)	KM	Menge (ml)	RS (mAs)	Total DLP (mGy*cm)	CTDIvol (mGy)
82	w	73	166	89	0,000	0,000	Uv 300	60	2386	202	6,84
83	m	60	176	97	0,000	0,000	Uv 300	60	3107	257	6,84
84	w	80	175	62	0,048	0,202	Uv 300	60	5760	293	6,84
85	w	70	154	67	0,020	0,241	Uv 370	50	1962	208	6,34
86	m	60	187	80	0,000	0,000	nein	0	6089	299	6,84
87	m	60	173	82	0,000	0,102	Uv 300	60	1753	304	7,79
88	m	75	168	105	0,000	0,390	Uv 370	50	2658	472	12,61
89	w	83	165	68	0,000	0,000	Uv 300	60	2661	220	6,84
90	w	75	166	94	0,000	0,000	nein	0	3853	406	13,22
91	m	68	170	59	0,000	0,000	Uv 370	60	2989	248	6,84
92	w	76	150	75	0,000	0,000	Uv 300	60	2497	196	6,84
93	m	62	180	130	0,000	0,000	Uv 300	60	2835	237	6,84
94	m	69	184	90	0,000	0,000	Uv 300	60	3166	265	6,84
95	m	43	180	78	0,000	0,000	nein	0	1565	271	6,80
96	m	70	173	95	0,067	0,301	Uv 300	60	2901	233	6,84
97	w	51	173	84	0,000	0,323	Uv 300	60	2794	221	6,84
98	m	70	165	82	0,076	0,136	Uv 370	50	3000	543	13,08

Fortsetzung auf der nächsten Seite

Tabelle A.1.: Ergebnisse der mikroskopischen Auswertung - Fortsetzung

Patient (Nr)	Geschl.	Alter (J)	Größe (cm)	Gew. (kg)	F/Z (v. CT)	F/Z (n. CT)	KM	Menge (ml)	RS (mAs)	Total DLP (mGy*cm)	CTDIvol (mGy)
99	m	60	185	81	0,000	0,000	nein	0	2388	427	11,73
100	m	72	180	72	0,000	0,000	nein	0	1644	284	7,90
101	m	73	178	65	0,000	0,000	nein	0	1717	294	6,55
102	m	41	172	82	0,183	0,090	nein	0	2530	451	12,09
103	w	62	159	68	0,000	0,000	Uv 370	50	1903	336	9,47
104	w	57	164	70	0,000	0,000	Uv 370	50	1683	292	7,90
105	m	51	170	73	0,000	0,000	nein	0	2576	215	6,84
106	m	50	181	114	0,000	0,000	Uv 370	50	3401	619	15,48
107	m	71	173	82	0,093	0,000	Uv 300	60	2895	237	6,84
108	m	54	184	65	0,026	0,008	Uv 370	50	1724	291	7,13
109	m	55	181	72	0,000	0,272	Uv 370	50	1797	311	8,04
110	m	47	180	81	0,000	0,000	Uv 370	50	1957	342	8,37
111	w	65	166	85	0,000	0,135	Uv 370	50	2469	444	11,35
112	m	21	185	84	0,118	0,087	nein	0	3156	272	6,84
113	m	58	172	110	0,084	0,091	Uv 300	60	2526	213	6,84
114	m	78	177	106	0,000	0,125	nein	0	2760	227	6,84
115	m	60	176	110	0,082	0,040	nein	0	2675	478	12,28

Fortsetzung auf der nächsten Seite

Tabelle A.1.: Ergebnisse der mikroskopischen Auswertung - Fortsetzung

Patient (Nr)	Geschl.	Alter (J)	Größe (cm)	Gew. (kg)	F/Z (v. CT)	F/Z (n. CT)	KM	Menge (ml)	RS (mAs)	Total DLP (mGy*cm)	CTDIvol (mGy)
116	m	52	169	162	0,000	0,135	Uv 370	50	1650	280	6,39
117	w	69	170	70	0,173	0,112	Uv 370	50	1520	257	7,19
118	w	64	162	78	0,000	0,152	Uv 370	50	2309	408	10,44
119	m	76	165	80	0,000	0,043	Uv 370	50	1866	331	9,28
120	m	53	171	75	0,000	0,069	nein	0	2940	246	6,84
121	m	53	185	87	0,135	0,061	Uv 370	50	1867	319	7,13
122	w	71	158	90	0,000	0,095	Uv 370	50	3100	255	6,84
123	m	70	180	80	0,000	0,000	Uv 370	50	1877	328	7,93
124	w	80	162	90	0,000	0,000	nein	0	2956	534	15,04
125	m	76	169	84	0,000	0,297	Uv 370	50	1892	328	8,62
126	m	73	165	70	0,000	0,133	Uv 300	60	3073	251	6,84
127	m	74	173	72	0,000	0,000	Uv 300	60	3329	272	6,84
128	m	62	174	130	0,120	0,358	Uv 300	60	2936	249	6,84
129	m	85	170	70	0,000	0,219	Uv 300	60	2727	218	6,84
130	m	69	181	87	0,000	0,000	Uv 300	60	3076	254	6,84
131	w	78	160	46	0,086	0,124	Uv 370	50	843	130	3,11
132	m	59	176	96	0,087	0,180	nein	0	2935	239	6,84

Fortsetzung auf der nächsten Seite

Tabelle A.1.: Ergebnisse der mikroskopischen Auswertung - Fortsetzung

Patient (Nr)	Geschl.	Alter (J)	Größe (cm)	Gew. (kg)	F/Z (v. CT)	F/Z (n. CT)	KM	Menge (ml)	RS (mAs)	Total DLP (mGy*cm)	CTDIvol (mGy)
133	w	58	158	80	0,000	0,242	Uv 370	50	3113	557	16,00
134	w	67	161	81	0,000	0,093	Uv 370	50	2099	369	10,41
135	w	69	168	85	0,117	0,156	Uv 370	60	2969	239	6,84
136	m	43	185	118	0,000	0,093	nein	0	3230	584	14,46
137	m	43	178	104	0,000	0,000	Uv 300	60	3303	597	14,43
138	m	67	180	86	0,000	0,000	Uv 300	60	3284	267	6,84
139	m	69	180	87	0,000	0,000	Uv 300	60	3004	252	6,84
140	m	74	165	62	0,000	0,000	Uv 300	60	2519	212	6,84
141	m	49	191	99	0,489	0,195	nein	0	3120	246	6,84
142	m	29	183	76	0,240	0,346	Uv 300	50	2854	244	6,84
143	w	31	161	62	0,000	0,000	nein	0	2285	189	6,84
144	m	68	180	130	0,000	0,020	Uv 370	50	3701	673	17,04
145	w	75	155	59	0,117	0,082	nein	0	1292	223	6,33
146	w	70	170	94	0,218	0,320	Uv 370	50	3160	574	15,61
147	w	54	k.A.	k.A.	0,000	0,000	Uv 370	50	1402	238	6,39
148	m	60	176	77	0,000	0,000	Uv 370	50	1804	315	8,37
149	m	81	168	87	0,078	0,162	Uv 300	60	2840	227	6,84

Fortsetzung auf der nächsten Seite

Tabelle A.1.: Ergebnisse der mikroskopischen Auswertung - Fortsetzung

Patient (Nr)	Geschl.	Alter (J)	Größe (cm)	Gew. (kg)	F/Z (v. CT)	F/Z (n. CT)	KM	Menge (ml)	RS (mAs)	Total DLP (mGy*cm)	CTDIvol (mGy)
150	w	74	162	70	0,000	0,000	Uv 300	50	3101	241	6,84
151	m	74	166	73	0,000	0,000	Uv 370	50	1759	309	8,34
152	w	82	168	52	0,000	0,000	Uv 370	50	967	156	4,07
153	w	67	k.A.	k.A.	0,375	0,573	nein	0	2289	411	11,48
154	w	79	155	49	0,170	0,123	Uv 370	50	1199	199	5,45
155	w	84	158	57	0,049	0,000	nein	0	1208	205	6,30
156	m	76	169	73	0,240	0,350	Uv 370	50	1266	216	5,86
157	m	70	176	94	0,000	0,000	Uv 300	60	2623	214	6,84
158	w	81	165	75	0,158	0,000	nein	0	1503	259	7,13
159	w	45	k.A.	k.A.	0,000	0,213	Uv 300	60	2619	207	6,84
160	m	65	178	80	0,068	0,055	Uv 370	50	1933	340	8,37
161	m	77	171	82	0,000	0,000	Uv 370	50	1723	300	8,42
162	m	48	175	53	0,075	0,376	Uv 370	50	1140	186	4,43
163	w	68	159	51	0,000	0,000	Uv 370	50	951	157	4,46
164	m	74	k.A.	k.A.	0,000	0,000	Uv 300	60	3102	254	6,84
165	w	70	k.A.	k.A.	0,000	0,383	nein	0	1703	298	8,20
166	m	76	169	86	0,139	0,000	Uv 370	50	1611	281	8,26

Fortsetzung auf der nächsten Seite

Tabelle A.1.: Ergebnisse der mikroskopischen Auswertung - Fortsetzung

Patient (Nr)	Geschl.	Alter (J)	Größe (cm)	Gew. (kg)	F/Z (v. CT)	F/Z (n. CT)	KM	Menge (ml)	RS (mAs)	Total DLP (mGy*cm)	CTDIvol (mGy)
167	m	68	180	66	0,000	0,130	Uv 370	50	1349	223	5,06
168	m	88	k.A.	k.A.	0,000	0,000	Uv 370	50	1292	219	6,00
169	m	70	k.A.	k.A.	0,195	0,140	nein	0	2008	353	8,39
170	w	64	155	63	0,000	0,000	Uv 370	50	1439	247	6,96
171	w	49	164	72	0,056	0,124	Uv 370	50	1588	275	7,40
172	m	79	181	80	0,000	0,000	nein	0	2333	409	9,58
173	m	45	178	111	0,000	0,000	Uv 370	50	3364	612	15,77
174	w	78	170	80	0,000	0,000	Uv 370	50	1671	292	7,87
175	w	61	161	76	0,056	0,103	Uv 370	50	1533	265	7,68
176	m	55	190	90	0,000	0,191	Uv 370	50	1822	320	8,64
177	w	46	162	76	0,000	0,000	Uv 370	50	2035	365	10,54
178	w	88	k.A.	k.A.	0,000	0,182	nein	0	3234	264	6,84
179	m	75	167	97	0,000	0,440	Uv 370	50	2688	482	13,73
180	m	48	179	82	0,000	0,000	Uv 370	50	1787	312	8,34
181	m	66	173	52	0,000	0,000	Uv 370	50	968	155	3,72
182	m	71	176	75	0,296	0,138	Uv 370	50	1840	320	8,06
183	m	70	174	95	0,318	0,359	nein	0	2819	236	6,84

Fortsetzung auf der nächsten Seite

Tabelle A.1.: Ergebnisse der mikroskopischen Auswertung - Fortsetzung

Patient (Nr)	Geschl.	Alter (J)	Größe (cm)	Gew. (kg)	F/Z (v. CT)	F/Z (n. CT)	KM	Menge (ml)	RS (mAs)	Total DLP (mGy*cm)	CTDIvol (mGy)
184	w	89	163	k.A.	0,390	0,407	Uv 300	60	3227	252	6,84
185	w	70	156	52	0,276	0,423	Uv 370	50	975	157	4,46
186	m	77	k.A.	k.A.	0,000	0,000	nein	0	2930	237	6,84
187	w	40	k.A.	k.A.	0,000	0,000	Uv 370	50	2341	419	13,18
188	m	65	187	87	0,000	0,111	Uv 370	50	1310	217	5,50
189	m	54	175	100	0,000	0,000	Uv 300	60	2639	222	6,84
190	m	70	175	72	0,063	0,186	Uv 370	50	1470	261	8,09
191	w	61	168	68	0,320	0,178	Uv 300	55	2807	218	6,84
192	w	80	170	95	0,073	0,068	Uv 370	50	2196	392	10,13
193	w	75	165	75	0,324	0,344	Uv 300	60	2709	211	6,84
194	m	54	180	108	0,285	0,159	Uv 370	50	3072	555	15,55
195	w	83	157	54	0,000	0,317	Uv 370	50	1219	115	2,99
196	m	67	181	83	0,000	0,331	Uv 300	60	3074	259	6,84
197	w	79	154	64	0,000	0,000	nein	0	1814	316	8,45
198	m	75	170	85	0,085	0,129	nein	0	1958	346	10,54
199	m	38	179	88	0,000	0,409	nein	0	2237	396	9,44
200	m	66	176	98	0,000	0,000	nein	0	2630	474	12,00

Fortsetzung auf der nächsten Seite

Tabelle A.1.: Ergebnisse der mikroskopischen Auswertung - Fortsetzung

Patient (Nr)	Geschl.	Alter (J)	Größe (cm)	Gew. (kg)	F/Z (v. CT)	F/Z (n. CT)	KM	Menge (ml)	RS (mAs)	Total DLP (mGy*cm)	CTDIvol (mGy)
201	w	31	k.A.	k.A.	0,000	0,000	Uv 370	50	1706	296	7,71
202	w	75	k.A.	k.A.	0,000	0,000	Uv 370	50	1711	176	4,61
203	m	61	185	81	0,079	0,126	nein	0	2657	477	12,85
204	m	77	173	82	0,000	0,000	Uv 370	50	2101	373	9,88
205	w	63	k.A.	k.A.	0,073	0,191	Uv 370	50	3812	698	18,22
206	m	74	168	72	0,076	0,049	Uv 370	50	1887	332	8,61
207	w	80	k.A.	k.A.	0,109	0,113	Uv 370	50	1147	196	6,19
208	w	63	153	67	0,000	0,000	nein	0	2769	387	10,90
209	w	37	k.A.	k.A.	0,000	0,000	Uv 370	50	918	91	2,44
210	m	23	k.A.	k.A.	0,000	0,104	nein	0	2184	384	9,17
211	m	77	176	95	0,000	0,000	Uv 300	60	2714	225	6,84
212	m	78	167	54	0,000	0,000	Uv 300	60	2757	221	6,84
213	m	73	164	70	0,000	0,000	nein	0	3578	287	6,84
214	m	89	185	102	0,149	0,000	Uv 370	50	2065	365	9,33
215	m	46	165	97	0,000	0,000	Uv 370	50	3182	579	15,52
216	w	51	k.A.	k.A.	0,104	0,125	Uv 370	50	2273	394	11,39
217	m	60	k.A.	k.A.	0,000	0,000	Uv 370	80	2926	375	9,19

Fortsetzung auf der nächsten Seite

Tabelle A.1.: Ergebnisse der mikroskopischen Auswertung - Fortsetzung

Patient (Nr)	Geschl.	Alter (J)	Größe (cm)	Gew. (kg)	F/Z (v. CT)	F/Z (n. CT)	KM	Menge (ml)	RS (mAs)	Total DLP (mGy*cm)	CTDIvol (mGy)
218	m	76	k.A.	k.A.	0,105	0,000	Uv 370	50	1793	313	7,90
219	m	72	173	82	0,142	0,167	Uv 370	50	1721	302	8,06
220	m	73	175	72	0,000	0,000	Uv 300	60	2516	202	6,84
221	w	52	k.A.	k.A.	0,060	0,021	nein	0	2853	236	6,84
222	w	72	162	62	0,000	0,000	nein	0	1459	149	4,24
223	m	76	176	73	0,000	0,000	Uv 370	50	1820	186	4,82
224	m	66	172	72	0,179	0,207	Uv 370	50	1817	316	8,01
225	w	77	172	70	0,000	0,000	nein	0	1947	346	9,63
226	m	83	170	80	0,127	0,185	nein	0	2028	361	9,99
227	m	57	168	42	0,056	0,059	Uv 370	50	757	69	1,67
228	m	57	180	110	0,202	0,148	Uv 370	50	3119	559	14,86
229	m	19	178	84	0,000	0,000	Uv 370	50	485	64	1,65
230	m	68	169	75	0,053	0,167	Uv 370	100	4700	610	12,47
231	m	72	165	84	0,000	0,135	nein	0	1966	347	10,65
232	w	33	160	59	0,117	0,122	Uv 370	50	1469	149	4,22
233	w	72	160	83	0,092	0,155	Uv 370	50	2429	437	12,30
234	m	73	173	105	0,261	0,091	Uv 370	50	3411	616	16,43

Fortsetzung auf der nächsten Seite

Tabelle A.1.: Ergebnisse der mikroskopischen Auswertung - Fortsetzung

Patient (Nr)	Geschl.	Alter (J)	Größe (cm)	Gew. (kg)	F/Z (v. CT)	F/Z (n. CT)	KM	Menge (ml)	RS (mAs)	Total DLP (mGy*cm)	CTDIvol (mGy)
235	w	42	k.A.	k.A.	0,049	0,141	Uv 370	50	1911	332	8,53
236	m	64	184	112	0,096	0,239	Uv 370	50	2821	770	19,75
237	m	41	166	71	0,000	0,096	Uv 370	50	1976	347	8,64
238	m	27	168	77	0,000	0,000	nein	0	1675	292	8,06
239	m	80	172	75	0,038	0,158	nein	0	1761	309	7,82
240	w	88	170	66	0,201	0,208	Uv 370	50	1381	139	3,96
241	w	68	168	107	0,209	0,095	Uv 370	50	2294	410	11,94
242	w	55	168	90	0,229	0,162	Uv 370	50	2128	381	10,98
243	w	66	166	84	0,000	0,195	Uv 370	50	1956	344	9,36
244	m	60	174	98	0,000	0,000	nein	0	2980	536	13,43
245	m	52	172	78	0,000	0,176	nein	0	2927	241	6,84

Literatur

- ADAMS F u. a. Chromosome damage in infants and children after cardiac catheterization and angiocardiography. eng. *Pediatrics* 1978; 62:312–316.
- AGER D, DEWEY W. Calibration of pulsed field gel electrophoresis for measurement of DNA double-strand breaks. eng. *Int J Radiat Biol* 1990; 58:249–259.
- BÖCKER W, ILIAKIS G. Computational Methods for analysis of foci: validation for radiation-induced gamma-H2AX foci in human cells. eng. *Radiat Res* 2006; 165:113–124.
- BECKER C. Prophylaxis and treatment of side effects due to iodinated contrast media relevant to radiological practice. ger. *Radiologe* 2007; 47:768–773.
- BURMA S u. a. Role of non-homologous end joining (NHEJ) in maintaining genomic integrity. eng. *DNA Repair (Amst)* 2006; 5:1042–1048.
- CALLISEN H u. a. Absorbed dose in the presence of contrast agents during pediatric cardiac catheterization. eng. *Med Phys* 1979; 6:504–509.
- CHATGILIALOGLU C, O’NEILL P. Free radicals associated with DNA damage. eng. *Exp Gerontol* 2001; 36:1459–1471.
- COCHRAN S u. a. Cytogenetic effects of contrast material in patients undergoing excretory urography. eng. *Radiology* 1980; 136:43–46.
- CORMACK A. 75 years of Radon transform. eng. *J Comput Assist Tomogr* 1992; 16:673.
- Representation of a Function by Its Line Integrals, with Some Radiological Applications. *Journal of Applied Physics* 1963; 34:2722.
 - Representation of a Function by Its Line Integrals, with Some Radiological Applications. II. *Journal of Applied Physics* 1964; 35:2908–2913.
- DUDÁS A, CHOVANEC M. DNA double-strand break repair by homologous recombination. eng. *Mutat Res* 2004; 566:131–167.

- FERNANDEZ-CAPETILLO O u. a. H2AX: the histone guardian of the genome. eng. DNA Repair (Amst) 2004; 3:959–967.
- GAVRIELI Y u. a. Identification of programmed cell death in situ via specific labeling of nuclear DNA fragmentation. eng. J Cell Biol 1992; 119:493–501.
- GEISEL D u. a. DNA double-strand breaks after percutaneous transluminal angioplasty. eng. Radiology 2008; 248:852–859.
- GONZÁLEZ J u. a. Quantitative image analysis of gamma-H2AX foci induced by ionizing radiation applying open source programs. eng. Anal Quant Cytol Histol 2012; 34:66–71.
- GRUDZENSKI S u. a. Contrast medium-enhanced radiation damage caused by CT examinations. eng. Radiology 2009; 253:706–714.
- HABER J. Partners and pathways repairing a double-strand break. eng. Trends Genet 2000; 16:259–264.
- HADNAGY W u. a. Enhanced yield of chromosomal aberrations in human peripheral lymphocytes in vitro using contrast media in X-irradiation. eng. Mutat Res 1982; 104:249–254.
- HELLEDAY T. Pathways for mitotic homologous recombination in mammalian cells. eng. Mutat Res 2003; 532:103–115.
- HERTRICH P. *Röntgenaufnahmetechnik: Grundlagen und Anwendungen*. Publis, 2004, 45. ISBN: 9783895782091.
- HEYER C u. a. Awareness of radiation exposure of thoracic CT scans and conventional radiographs: what do non-radiologists know?. ger. Rofo 2007; 179:261–267.
- HUDA W u. a. Converting dose-length product to effective dose at CT. eng. Radiology 2008; 248:995–1003.
- ICRP. Managing patient dose in computed tomography. ICRP Publication 87. eng. Ann. ICRP 2000; 30:7–45.
- JOST G u. a. The influence of x-ray contrast agents in computed tomography on the induction of dicentrics and gamma-H2AX foci in lymphocytes of human blood samples. eng. Phys Med Biol 2009; 54:6029–6039.

- JOUBERT A u. a. Irradiation in presence of iodinated contrast agent results in radiosensitization of endothelial cells: consequences for computed tomography therapy. eng. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2005; 62:1486–1496.
- JUCHA A u. a. FociCounter: a freely available PC programme for quantitative and qualitative analysis of gamma-H2AX foci. eng. *Mutat Res* 2010; 696:16–20.
- KANAAR R u. a. Molecular mechanisms of DNA double strand break repair. eng. *Trends Cell Biol* 1998; 8:483–489.
- KHANNA K, JACKSON S. DNA double-strand breaks: signaling, repair and the cancer connection. eng. *Nat Genet* 2001; 27:247–254.
- LÖBRICH M u. a. In vivo formation and repair of DNA double-strand breaks after computed tomography examinations. eng. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102:8984–8989.
- LEITZ W u. a. Computed Tomography Dose Assessment - A Practical Approach. *Radiation Protection Dosimetry* 1995; 57:377–380.
- MATSUBARA S u. a. Effects of contrast medium on radiation-induced chromosome aberrations. eng. *Radiology* 1982; 144:295–301.
- MATSUDAIRA H u. a. Iodine contrast medium sensitizes cultured mammalian cells to X rays but not to gamma rays. eng. *Radiat Res* 1980; 84:144–148.
- MCCULLOUGH P u. a. Epidemiology and prognostic implications of contrast-induced nephropathy. eng. *Am J Cardiol* 2006; 98:5K–13K.
- MÜLLER-WERDAN U, WERDAN K. Anaphylaxis and allergy. Recommendations for emergency treatment. ger. *Internist (Berl)* 2000; 41:363–373.
- MOZDARANI H, FADAEI S. Similar cytogenetic effects of sodium-meglumine diatrizoate and sodium-meglumine ioxithalamate in lymphocytes of patients undergoing brain CT scan. eng. *Toxicol Lett* 1998; 98:25–30.
- NAMASIVAYAM S u. a. Adverse reactions to intravenous iodinated contrast media: an update. eng. *Curr Probl Diagn Radiol* 2006; 35:164–169.
- NICK MCELHINNY S u. a. Ku recruits the XRCC4-ligase IV complex to DNA ends. eng. *Mol Cell Biol* 2000; 20:2996–3003.
- NORMAN A u. a. Cytogenetic effects of contrast media and triiodobenzoic acid derivatives in human lymphocytes. eng. *Radiology* 1978; 129:199–203.

- PARDO B u. a. DNA repair in mammalian cells: DNA double-strand break repair: how to fix a broken relationship. eng. *Cell Mol Life Sci* 2009; 66:1039–1056.
- PARVEZ Z u. a. Contrast media-induced chromosomal damage in human lymphocyte cultures. eng. *Invest Radiol* 1986; 21:864–869.
- PARVEZ Z u. a. Induction of mitotic micronuclei by X-ray contrast media in human peripheral lymphocytes. eng. *Mutat Res* 1987; 188:233–239.
- PATHE C u. a. The presence of iodinated contrast agents amplifies DNA radiation damage in computed tomography. eng. *Contrast Media Mol Imaging* 2011; 6:507–513.
- PAULY H u. a. Über die direkte und indirekte Strahlenwirkung auf Enzyme in der Zelle. *Radiation and Environmental Biophysics* 1 1966; 3:36–39.
- PINTO M u. a. Quantification of DNA damage by PFGE: development of an analytical approach to correct for the background distribution. eng. *Int J Radiat Biol* 2000; 76:741–748.
- POWELL S, McMILLAN T. DNA damage and repair following treatment with ionizing radiation. eng. *Radiother Oncol* 1990; 19:95–108.
- RADON J. Über die Bestimmung von Funktionen durch ihre Integralwerte längs gewisser Mannigfaltigkeiten. *Berichte über die Verhandlungen der Königlich Sächsischen Gesellschaft der Wissenschaften zu Leipzig. Mathematisch-Physikalische Klasse* 1917; 69:262–277.
- RAMSDEN D, GELLERT M. Ku protein stimulates DNA end joining by mammalian DNA ligases: a direct role for Ku in repair of DNA double-strand breaks. eng. *EMBO J* 1998; 17:609–614.
- REDON C u. a. Histone H2A variants H2AX and H2AZ. eng. *Curr Opin Genet Dev* 2002; 12:162–169.
- REDON C u. a. The use of gamma-H2AX as a biodosimeter for total-body radiation exposure in non-human primates. eng. *PLoS One* 2010; 5:e15544.
- ROCH-LEFÈVRE S u. a. Quantification of gamma-H2AX foci in human lymphocytes: a method for biological dosimetry after ionizing radiation exposure. eng. *Radiat Res* 2010; 174:185–194.
- ROGAKOU E u. a. DNA double-stranded breaks induce histone H2AX phosphorylation on serine 139. eng. *J Biol Chem* 1998; 273:5858–5868.

- ROGAKOU E u. a. Megabase chromatin domains involved in DNA double-strand breaks in vivo. eng. *J Cell Biol* 1999; 146:905–916.
- ROTHKAMM K, LÖBRICH M. Evidence for a lack of DNA double-strand break repair in human cells exposed to very low x-ray doses. eng. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100:5057–5062.
- ROTHKAMM K u. a. Leukocyte DNA damage after multi-detector row CT: a quantitative biomarker of low-level radiation exposure. eng. *Radiology* 2007; 242:244–251.
- SANTOS MELLO R u. a. Radiation dose enhancement in tumors with iodine. eng. *Med Phys* 1983; 10:75–78.
- SEDELNIKOVA O u. a. Quantitative detection of (125)IdU-induced DNA double-strand breaks with gamma-H2AX antibody. eng. *Radiat Res* 2002; 158:486–492.
- SHRIMPTON P u. a. National survey of doses from CT in the UK: 2003. *Br J Radiol* 2006; 79:968–980.
- STEPHAN G, HADNAGY W. Chromosomal aberrations in patients exposed to X-rays and contrast medium. eng. *Eur J Radiol* 1981; 1:335–337.
- ÖSTLING O, JOHANSON K. Microelectrophoretic study of radiation-induced DNA damages in individual mammalian cells. eng. *Biochem Biophys Res Commun* 1984; 123:291–298.
- TAKAHASHI A, OHNISHI T. Does gammaH2AX foci formation depend on the presence of DNA double strand breaks? eng. *Cancer Lett* 2005; 229:171–179.
- ULLRICH P. Johann Radon und die Grundlagen der Computertomographie. *Mathematische Semesterberichte* 2 2004; 50:143–166.
- VAN GENT D u. a. Chromosomal stability and the DNA double-stranded break connection. eng. *Nat Rev Genet* 2001; 2:196–206.
- WANG C u. a. Frequency, management, and outcome of extravasation of nonionic iodinated contrast medium in 69,657 intravenous injections. eng. *Radiology* 2007; 243:80–87.
- WARD J. Biochemistry of DNA lesions. eng. *Radiat Res Suppl* 1985; 8:S103–S111.

WARD J. Radiation mutagenesis: the initial DNA lesions responsible. eng. Radiat Res 1995; 142:362–368.

ZHANG Y u. a. Partial deficiency of DNA-PKcs increases ionizing radiation-induced mutagenesis and telomere instability in human cells. eng. Cancer Lett 2007; 250:63–73.

Curriculum Vitae (entfernt)

Diese Seite wurde vor endgültiger Drucklegung der Pflichtexemplare entfernt.

Verzeichnis der akademischen Lehrer

Meine akademischen Lehrerinnen und Lehrer an der Universität Witten/Herdecke waren in alphabetischer Reihenfolge die Damen und Herren:

Arnold, Bertram, Bieker, Gängler, Jöhren, Kaufmann, Kettner, Klein, Lang, Lösgen, Palatka, Pfüller, Rabeneck, Roßlenbroich, Thévenod, Zöllner

Meine akademischen Lehrerinnen und Lehrer an der Philipps-Universität Marburg waren in alphabetischer Reihenfolge die Damen und Herren:

Arweiler, Aumüller, Czubayko, Dibbets, Flores-de-Jacoby, Frankenberger, Gente, Graz, Grundmann, Höffken, Korbmacher-Steiner, Lalyko, Lamp, Lotzmann, Mengel, Mittag, Mutters, Neff, Pancherz, Pieper, Ramaswamy, Richter, Sonntag, Stachniss, Stiletto, Stöver, Teymoortash

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich herzlich bei allen Menschen bedanken, die mich in der Zeit meiner Dissertation mit Wort und Tat unterstützt haben:

Bei Herrn **Prof. Dr. Dr. Johannes Heverhagen**, meinem Betreuer und Doktorvater, für die Überlassung des Themas und die exzellente Betreuung während der gesamten Zeit. Auch für die konstruktive Kritik und stetigen Verbesserungsvorschläge bei der Verschriftlichung bin ich dankbar. Ich habe während meiner Zeit als Doktorand in der Klinik für Strahlendiagnostik Einblicke in für mich neue Bereiche wie der Mikroskopie und der Laborarbeit gewinnen können, sowie viel Erfahrung mit wissenschaftlichem Arbeiten sammeln dürfen. Ich wünsche ihm alles Gute an der neuen Wirkungsstätte.

Herrn **Prof. Dr. med. Klaus Jochen Klose**, ehemaliger Direktor der Klinik für Strahlendiagnostik des Universitätsklinikums Marburg und Gießen, Standort Marburg, danke ich für die Bereitstellung des Arbeitsplatzes, der Laboreinrichtungen sowie der nötigen infrastrukturellen Voraussetzungen.

Bei Frau **Beate Kleb** möchte ich mich ganz besonders für die labortechnische Aufbereitung der Proben und der nimmermüden Unterstützung bei der Mikroskopie bedanken. Ohne sie wäre diese Arbeit niemals in diesem Umfang möglich gewesen.

Allen Mitgliedern des **Forums für medizinische Physik** sei an dieser Stelle für die hervorragende Arbeitsatmosphäre und hilfreichen Tipps gedankt. Die zahlreichen Treffen im internen, aber vor allem im externen Forum werde ich vermissen.

Den Ärztinnen und Ärzten, sowie den Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern der **Poliklinik** für die Aufklärung der Patienten, die Blutentnahme, sowie die Hilfe bei der Organisation.

Ich danke den **Patienten** der Klinik für Strahlendiagnostik für ihr Verständnis und ihre Mitarbeit.

Mein größter Dank gilt **meiner Frau, meinen Eltern und meiner Schwester**. Ohne ständigen Zuspruch und Bekräftigungen, das stetige Vertrauen sowie die seelische und materielle Unterstützung wäre mir dieses Studium und auch diese Arbeit nie möglich gewesen.

Marburg, den 10.10.2013
Jan-Friedrich Walter Peter

Ehrenwörtliche Erklärung (entfernt)

Diese Seite wurde vor endgültiger Drucklegung der Pflichtexemplare entfernt.